

UNIVERSITE DE CLERMONT
FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1968/69

N° ~~Dr 0/68~~

T H È S E

présentée et soutenue publiquement
en décembre 1968
pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L UNIVERSITE [PHARMACIE]

par

Robert OGIER
Pharmacien

CONTRIBUTION

**A L'ETUDE CRITIQUE ET EXPERIMENTALE
DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DU THYMUS
EN FONCTION DE L'AGE**

Président : Monsieur DASTUGUE, Professeur
Membres du Jury : Monsieur MEYNIEL, Doyen
Monsieur TURCHINI, Professeur
Monsieur BASTIDE, Professeur

CLERMONT-REPRODUCTION
64, avenue Jean Noellet
63 - AUBIÈRE (1968)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1968/69

N° Ph 8/68

T H È S E

présentée et soutenue publiquement
en décembre 1968
pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L UNIVERSITE [PHARMACIE]

par

Robert OGIER
Pharmacien

CONTRIBUTION

A L'ETUDE CRITIQUE ET EXPERIMENTALE DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DU THYMUS EN FONCTION DE L'AGE

Président : Monsieur DASTUGUE, Professeur

Membres du Jury : Monsieur MEYNIEL, Doyen
Monsieur TURCHINI, Professeur
Monsieur BASTIDE, Professeur

CLERMONT - REPRODUCTION

64, avenue Jean Noellet
63 - AUBIÈRE (1968)

UNIVERSITE
de FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
CLERMONT

Doyen : G. MEYNIEL,
Assesseur : M. COULET

Doyen Honoraire : M. CUVELIER Directeur Honoraire : M. MERLE.

Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET, MM. BUREAU,
M. POMME

I - Professeurs Titulaires

MM. BARRIER	- Clinique Chirurgicale A
BASTIDE	- Chimie biologique et Pharmacodynamie
BAUDON	- Clinique obstétricale
BERGER	- Chimie analytique
BERGERON	- Pathologie médicale
COULET	- Botanique et microbiologie
CUVELIER	- Hydrologie et Climatologie
DASTUGUE	- Biochimie médicale
DAUPHIN	- Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
DELAGE	- Anatomie Pathologique
FEBVRE	- Pharmacie Galénique
GRAS	- Clinique Médicale
JACQUEMET	- Technique chirurgicale
JALLUT	- Séméiologie médicale
LATAIX	- Pathologie chirurgicale
MERCIER	- Anatomie
MEYNIEL	- Biophysique médicale
MOLINA	- Clinique Pneumo-ptisiologique
PETIT	- Médecine légale et Médecine sociale
POROT	- Clinique neurologique et psychiatrique
POURRAT	- Matière médicale
Mele RAMPON	- Thérapeutique
MM. ROUHER	- Clinique ophtalmologique
TERRASSE	- Clinique médicale B
THIEBLOT	- Physiologie
THOMAS	- Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
TRONCHE	- Pharmacie chimique
TURCHINI	- Histologie et Embryologie
VAURS	- Bactériologie et Hygiène
WILLEMIN-CLOG	- Clinique Médicale infantile

II - Professeurs Titulaires à titre personnel

M. CHAMPEIX	- Médecine Légale et Médecine du Travail
M. VIALLET	- Electro-Radiologie.

III - Professeurs sans Chaire.

MM. ALFIERI	- Biophysique Médicale
CLUZEL	- Bactériologie
DUCHENE-MARULLAZ	- Physiologie
GERMAIN	- Clinique Chirurgicale B
MENUT	- Pédiatrie et Puériculture.

IV - Maîtres de Conférences Agrégés.

Mlle CHATONIER	- Chimie minérale et Minéralogie
Mme GAILLARD	- Physique Pharmaceutique
Mme MOINADE	- Médecine générale et Thérapeutique
M. PIGNIDE	- Médecine générale
Mme POURRAT	- Botanique
M. VENRIES de LAGUILLAUMIE	- Anatomie Pathologique

V - Agrégés

MM. FOURRIER	- Orthopédie
HOUDARD	- Chirurgie Générale
JANNY	- Neuro-chirurgie
RENARD	- Pneumo-phthisiologie
TOURNILHAC	- Neurologie et Psychiatrie

VI - Délégués dans les fonctions de Maitres de Conférences.

MM. MALET	- Histologie et embryologie
MARCHEIX	- Médecine générale et Thérapeutique
PLAGNE	- Cancérologie

Attaché Principal : M. BERTHON
Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation ni improbation. (Délibération en date du 6 Juin 1956).

— 0 —

A la mémoire de ma Mère

A mon Père

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur DASTUGUE

Professeur de Biochimie Médicale

Docteur en Médecine et en Pharmacie

Docteur ès-Sciences

Biologiste des Hôpitaux

Lauréat de l'Académie de Médecine

et de l'Académie des Sciences

Chevalier de la Légion d'Honneur

Commandeur de la Santé Publique

Officier des Palmes Académiques

Officier de l'Ordre National du Mérite.

Qui nous a choisi notre sujet et a, pendant plusieurs années, guidé, avec une magistrale compétence et une constante bonté, l'exécution tant bibliographique qu'expérimentale de ce travail.

Qu'il veuille bien accepter l'expression de notre gratitude et de notre fidélité totales.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Doyen MEYNIEL

Professeur de Biophysique Médicale

qui, dès le début de notre travail, nous a manifesté une sympathie et un intérêt sans défaillance et pour lesquels nous le prions d'accepter nos très respectueux remerciements.

Monsieur le Professeur TURCHINI

Professeur d'Histologie et d'Embryologie

qui, avec une amabilité totale, a mis les ressources de son laboratoire à notre disposition pour la localisation précise des activités enzymatiques, ce pour quoi nous l'assurons de notre plus entière reconnaissance.

Monsieur le Professeur BASTIDE

Professeur de Chimie Biologique et de Pharmacodynamie

qui, avec un désintéressement absolu, nous a patiemment et pas à pas éclairé et encouragé, au milieu des difficultés techniques de toutes sortes que comportait ce travail. Qu'il veuille bien recevoir ici l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre total dévouement.

INTRODUCTION

Affirmer que le thymus est au premier plan de l'actualité biologique est devenu une banalité. On a attribué aux thymocytes des caractères histo-chimiques propres qui permettent de les distinguer des lymphocytes ganglionnaires. Leur identification dans le sang circulant confirme la migration incessante de ces cellules, du thymus vers les autres tissus, et a fait naître la notion de thymocytose. Ainsi le thymus apparaît-il comme un inducteur de certaines réactions immunologiques. Les cellules qu'il fournit, primitivement inactives, deviendraient immunologiquement compétentes au niveau des organes lymphoïdes. Inversement, si le thymus perdait sa protection habituelle contre les antigènes, il deviendrait à son tour immunologiquement actif. Est-ce-à dire, pour autant, que les fonctions assumées par le thymus surgissent en pleine lumière ? Le rôle du thymus dans l'anabolisme tissulaire et dans l'hématopoïèse, voire même dans les processus immunologiques, n'est pas encore clairement établi. On ose à peine évoquer pour lui un aspect endocrinien. Il n'en est pas moins certain que ces fonctions, si discutées qu'elles soient, demeurent importantes. Elles supposent inéluctablement un métabolisme non négligeable s'intriquant avec un équipement enzymatique étoffé. C'est pourquoi il nous a paru utile d'aborder expérimentalement, après quelques autres, l'investigation des activités enzymatiques du thymus, et d'esquisser une mise au point du problème, que nous présentons ci-après.

Notre mémoire comprendra donc :

1 - Recherches bibliographiques :

- chapitre I : Hydrolases.
- chapitre II : Transférases.
- chapitre III : Oxydo-réductases.
- chapitre IV : Lyases et Synthéases.
- chapitre V : Isomérases et Racémases.
- chapitre VI : Enzymes et Métabolismes.

2 - Recherches expérimentales :

Introduction

Expérimentation :

- chapitre I : Thymectomies.
- chapitre II : Mesures pondérales.
- chapitre III : Préparation des homogénats.
- chapitre IV : Dosage du sang dans les homogénats.
- chapitre V : Catalase.
- chapitre VI : Créatine-phosphokinase.
- chapitre VII : Adénosine-triphosphatase.
- chapitre VIII : Leucine-amino-peptidase.

Enfin, dans une conclusion générale, nous avons résumé les résultats auxquels nous avons abouti, et nous avons présenté une esquisse d'interprétation.

Quant à la bibliographie, il nous a paru préférable, pour en permettre une consultation plus aisée, de la présenter en deux parties disposées à la fin du travail et correspondant, la première, à l'exposé analytique, et la seconde au travail expérimental.

Qu'il nous soit permis d'exprimer ici notre vive gratitude aux Maîtres qui ont dirigé ces recherches, Messieurs les Professeurs DASTUGUE et BASTIDE ; nous tenons également à adresser nos vifs remerciements à ceux qui ont accepté de juger ce travail, Monsieur le Doyen MEYNIEL et Monsieur le Professeur TURCHINI .

PREMIERE PARTIE

RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE PREMIER

HYDROLASES

Les hydrolases jouent, dans le thymus, un rôle des plus importants aussi bien par leur nombre que par l'aspect capital de leurs interventions dans l'ensemble du métabolisme de cet organe.

Classe I : Les ESTERASES.

A - ESTERASES CARBOXYLIQUES -

La détection de ces enzymes a été entreprise sur l'Homme et sur différentes espèces animales. Chez les nouveaux-nés, décédés dans les 24 premières heures, le Thymus a livré la Cholinestérase du type E ou Cholinestérase vraie (LANGEMANN, 129). Puis, chez les nourrissons, l'activité cholinestérasique comprend, outre la Cholinestérase non spécifique, de l'Acétyl-cholinestérase; cette dernière, qui appartient surtout à la période néo-natale, se verrait ensuite remplacée progressivement par l'enzyme non spécifique ; cette co-existence des deux ferments, chacun en proportion variable, se situerait entre la 2ème et la 10ème année de la vie (REGISTER, 186) ; dans cette même période de l'existence, le type S, ou Pseudo-Cholinestérase de LANGEMANN (129), remplace peu à peu la Cholinestérase vraie identifiée chez le nouveau-né. A l'âge adulte, entre l'Homme et la Femme, les différences paraissent de peu d'importance (LANGEMANN, 128). Chez certains animaux, le Rat en particulier, la principale estérase de la glande thymique se révèle être la Cholinestérase spécifique (SAWYER et EVERETT, 191). La détection de l'activité estérasique dans différents tissus du Rat albinos, dont la glande thymique, peut être entreprise avec l'acétate d'indoxyle pour substrat (BARNETT, 17) :

les granules d'indigo apparaissent peu nombreux et avec une répartition très peu dense ; la possibilité d'une localisation de l'estérase semble, selon cet auteur, pour le moins très douteuse. Cependant, cette localisation paraît possible par la voie histochimique pratiquée sur le Thymus de divers mammifères (ROGISTER, 185) au cours de leur croissance et au stade adulte ; les thymocytes se montrent alors dépourvus de Cholinestérase, mais l'Acétyl-cholinestérase apparaît dans les cellules épithéliales de la médullaire thymique et dans les diverses formes de transition entre ces cellules et les corpuscules de Hassall ; lorsque ceux-ci se développent et subissent la kératinisation, l'enzyme n'est plus décelée. Au niveau d'une fibre post-ganglionnaire du Thymus, chez le Poulain, une nette activité acétyl-cholinestérasique a été mise en évidence par GEREBTZOFF (88). L'enzyme existe en grandes quantités dans la glande, mais la rareté des fibres nerveuses de cet organe s'oppose à un rapprochement significatif entre le taux global élevé du ferment et la faible masse nerveuse, rapprochement possible notamment dans la post-hypophyse et dans la médulla du cortex surrénal (LANGEMANN, 127). Au point de vue cellulaire, on est parvenu à distinguer des sites enzymatiques ; c'est ainsi que les noyaux isolés du Thymus de Veau, possèdent une activité estérasique 3 fois plus faible que celle du cytoplasme (STERN et coll., 214).

Certaines caractéristiques des Estérases carboxyliques, étudiées dans le Thymus du Poulet, sont analogues à celles d'une estérase organo-phospho-résistante et à celles d'une Estérase B non spécifique (FENNELL et PEARSE, 75). La glande thymique n'aurait pas d'Estérase capable d'hydrolyser certains substrats, comme l'iodure d'acétyl-thiocholine, le Tween 60 et le Tween 80.

L'intensité de ces activités estérasiques est partiellement connue : elle est très élevée pour la Cholinestérase spécifique (AUGUSTINSSON, 13). Chez le Porc, la méthode micro-manométrique de Warburg a permis des comparaisons entre différents organes (GLICK et coll., 89) : au pH de 7,4 et à la température de 30°C, en exprimant les résultats en ml de CO₂ dégagé en 30 minutes par 5 ml d'extrait, les chiffres sont, à titre d'exemples : 28 pour le Thymus, 26 pour la thyroïde et 60 pour la rate. Une préparation de Cholinestérase peut être obtenue par précipitation à partir d'un homogénat à 10 p. 100 de Thymus dans une solution de Ringer à pH = 7,35 ; on peut ensuite enregistrer le volume du CO₂ libéré à partir de bicarbonate par l'acide acétique provenant de l'hydrolyse du substrat dans un appareil de Warburg (ROGISTER et coll., 187) ; l'expérience a lieu à 37° C, sous azote et dure 1 heure ; elle porte sur 25 mammifères ; le substrat est de l'acétyl-choline ou de l'acétyl β -choline ; il apparaît une faible activité d'Acétyl- β -cholinestérase dans les jeunes corps de Hassall, les cellules précurseurs et les fibres nerveuses, puis l'enzyme disparaît avec l'âge ; il n'y a

pas de différences appréciables en passant d'une espèce à une autre (Veau = 37,7 et Poulain = 35,6), ou suivant le sexe (Porc = 23,7 et Truie = 27,6) mais il y en a d'importantes avec l'âge (Veau = 33 et Taureau = 5).

L'action des agents expérimentaux semble, à l'heure actuelle, se ramener à celle des rayons γ fournis par du ^{60}Co . Des Souris mâles âgées d'environ 4 semaines ont été irradiées avec une seule dose de 400 R. Il y a affaiblissement de l'activité estérasique dans les cellules corticales et dans quelques cellules réticulaires du mésenchyme médullaire ; puis, pendant la phase régénérative, il se produit la réaction inverse (SMITH et coll., 208).

Dans un cas de thymome, un extrait aqueux, préparé après extraction chirurgicale, fournit une vive activité cholinestérasique, du type nerveux (STABILINI et MARTINI, 212); la préparation recèle, en outre, un facteur activant aussi bien une préparation de Cholinestérase nerveuse que sérique.

Une activité aliestérasique a été évaluée dans le Thymus lyophilisé de l'Agneau ; si on utilise le β -naphtyl-laurate comme substrat, le taux d'hydrolyse est de 14 p. 100 en 2 h. avec une suspension tissulaire au 1/4.000 ; avec le β -naphtyl-acétate, on a 16 p. 100 en 6 h. avec une dilution thymique de 1/25.000, et avec le β -naphtyl-caprylate, on atteint 19 p. 100 en 6 h. avec une préparation enzymatique au 1/30.000 (OGIER et coll., 162).

L'Aspirinestérase est active dans le Thymus lyophilisé d'Agneau ; en 3 heures d'incubation à 37°, une suspension glandulaire au 1/100 hydrolyse encore significativement le substrat à la concentration de M/200 (BALLADE et coll., 14).

Chez des Souris, on a trouvé des Thymus porteurs de glandes parathyroïdes aberrantes, et même un canal accessoire à ces glandes et qui accusait vivement la présence d'Estérase non spécifique (SMITH et CLIFFORD, 207).

B - PHOSPHO-MONO-ESTERASE -

La présence de Phosphatase est aisée à constater, grâce à la réaction de GOMORI, même macroscopiquement. Les espèces animales qui ont les corpuscules de MALPIGHI positifs dans la rate, présentent souvent la réaction de la Phosphatase dans une couche cellulaire périphérique du Thymus ; les corps de HASSALL sont toujours positifs chez le Chien et le Lapin (GOMORI, 91). L'examen détaillé montre que les thymocytes comportent une membrane cellulaire contenant cette enzyme (TORO, 225). Par la technique de GOMORI modifiée, on met en évidence la Phosphatase acide dans les différents états de développement du Thymus des embryons et fœtus humains ; l'enzyme semble apparaître, dans certains cas, seulement dans les processus de différenciation, ou, dans d'autres cas,

être liée aussi aux processus fonctionnels (REALE, 182). Son activité est assez importante puisque 3 heures d'incubation à 37° permettent à une suspension thymique à 1/1.500 d'hydrolyser encore 11 p. 100 environ de son substrat (BALLADE et coll., 14). Si l'on représente par 100 cette activité enzymatique dans la rate, on trouve 91 dans le foie et seulement 19 dans le Thymus du Rat albinos mâle (BOUMA et GRUBER, 48). Dans un thymome du type lympho-épithélial, la Phosphatase acide non-spécifique s'est montrée plus active dans les capillaires que dans les éléments lymphocytaires (WACHSTEIN, 226). Nos connaissances de l'enzyme portent en outre, sur certaines conditions physiques. L'action des rayons X, notamment, a souvent sollicité l'attention des chercheurs. L'irradiation de tout le corps est imposée à des Souris mâles, âgées de 30 à 40 jours; puis le Thymus est prélevé afin d'en étudier les cellules réticulaires du mésenchyme; la réaction de la Phosphatase acide y est très accusée au bout de 2 heures; ces cellules deviennent plus nombreuses dans les 24 ou 36 heures qui suivent l'exposition au rayonnement, puis elles se raréfient et le Thymus présente de nouveau une apparence normale vers le 9ème jour (SMITH, 204). Une dose léthale de rayons X à des Rats, active l'enzyme dans la glande; cette activation serait due partiellement à une localisation dans les cellules radio-résistantes qui survivent 24 heures après l'exposition (ALDRIDGE et coll., 4); ces cellules sont classées comme réticulaires et macrophages. Dans le cas d'une exposition de tout le corps du Rat à des doses variées de rayons X, les conséquences sont les suivantes (RAHMAN, 181): après 200 R, il y a une faible baisse de l'activité enzymatique spécifique au bout de 5 heures, puis survient, après 24 heures, une augmentation de près de 3 fois par rapport à la normale, suivie d'une légère baisse au-delà de 48 heures; après 1000 R, l'augmentation de l'activité enzymatique spécifique est plus importante que dans le cas précédent au bout de 48 heures. Quant au pourcentage de l'activité libre, il ne semble pas affecté par l'irradiation.

La température d'incubation étant fixée à 37° C, comment vont agir les autres facteurs? Pour les Phospho-mono-estérases I et II (PELLEGRINO et MARTELLI, 170), l'influence du pH suit des courbes analogues à celles trouvées par d'autres chercheurs dans d'autres organes, dont le sérum sanguin; à ce niveau, RO-CHE et coll. (184) ont, en effet, mis en évidence l'existence de trois Phosphatases dont les pH optimum se situent respectivement dans les zones 3,4 - 4,1 puis 5,0 - 5,8 et environ 9,0. De très nombreux corps minéraux ou organiques s'avèrent des effecteurs; à des concentrations de 1 à 2 millimoles, l'ion Mg^{++} active la Phospho-mono-estérase I, mais n'a pas d'action sur II; le fluorure de sodium 0,01 M inhibe totalement II, tandis que le sulfate de cuivre 0,0002 M l'inhibe partiellement. La cystéine qui inhibe I, n'influence pas II; le DL-tartrate 0,01 M inhibe totalement II, mais la

formaldéhyde 0,467 M ne l'inhibe que partiellement. La concentration du substrat renforce au maximum l'activité enzymatique avec 3 - 6 millimoles pour la Phospho-mono-estérase I, et avec 21 pour la II.

Le bleu trypan, en injections répétées, produit un blocage du système réticulo-endothélial ; quelles en sont les conséquences pour la Phosphatase acide ? Une méthode histo-chimique montre que, dans les cellules de plusieurs organes du Rat, dont le Thymus, l'activité enzymatique se trouve affaiblie (BARKA et coll., 16) ; inversement, une seule injection de vaccin typhoïdique renforce le ferment, dans un délai de 48 heures. En ce qui concerne la concentration tissulaire, on observe qu'elle est en rapport direct avec l'activité enzymatique jusqu'à 8 mg/ml (PELLEGRINO et MARTELLI, 170) ; le taux d'hydrolyse se révèle sensiblement constant pendant une durée de 2 heures, aussi les auteurs ont-ils utilisé par la suite une heure d'incubation.

Un traitement à la gonadotrophine chorionique, sur le Rat, provoque expérimentalement l'involution du Thymus ; la Phosphatase acide s'y trouve renforcée, sans qu'il se produise de modification dans sa distribution (FIORI, 77). L'injection sous-cutanée à des Rats d'ACTH, de cortisone, d'hydro-cortisone et de désoxy-corticostérone, accentue la coloration révélatrice de la présence de l'enzyme (LEE et DOMM, 132).

Au voisinage de la neutralité, pour des pH de l'ordre de 6,7 à 6,9 une β -glycérophosphatase se manifeste dans plusieurs extraits frais chez la Souris normale ; le Thymus se révèle le moins riche d'entre eux (GREENSTEIN et LEUTHARDT, 97) ; l'activité des tumeurs est inférieure à celle des tissus normaux correspondants, sauf en ce qui concerne les thymomes : les résultats enregistrés avec des tissus frais, après dialyse, ne présentent pas de modification, mais les extraits dialysés sont activés par l'ion Na^+ et surtout l'ion Mg^{++} .

La Phosphatase alcaline : Sa mise en évidence dans les différents états de développement du Thymus, sur l'embryon et le fœtus humains, aboutit aux mêmes constatations déjà relatées plus haut en ce qui concerne son homologue acide (REALE, 182). On ne peut démontrer qu'une minime activité de cette enzyme dans le mésenchyme qui entoure le Thymus en cours de développement (ACKERMAN et KNOUFF, 3). En revanche, l'enzyme apparaît, très active, dans les jeunes éléments de la lignée thymocytaire, dans le réticulum mésenchymateux, en même temps que ces éléments s'enrichissent fortement en acide désoxy-ribonucléique et en histones (BEAUVIEUX, 18). Chez le Rat albinos, le Thymus en cours de développement présente une augmentation modérée de l'enzyme, en même temps que la différenciation du grand thymocyte, ou en relation avec elle (Mc ALPINE, 138). DOUNCE (66)

rappelle le fait établi par MIRSKY, suivant lequel les chromosomes isolés sont riches en Phosphatase alcaline. Chez certaines Souris, c'est tout le cortex thymique qui possède cette enzyme, alors que chez des animaux d'autres souches, le type d'activité rencontrée s'apparente à celui de souris jeunes ; chez certains de ces animaux âgés, la moitié environ des lobes thymiques sont plus fortement réactifs que les lobes de sujets jeunes (SMITH, 205). La localisation de l'enzyme a été particulièrement étudiée dans le cas de Calotes versicolor (APPASWAMY, 11) : par des tests histochimiques, l'auteur constate l'absence de la phosphatase alcaline dans les corpuscules de Hassall des reptiles, alors que cette réaction est positive chez les mammifères ; les masses plasmodiales des reptiles réagissent positivement aux réactifs de cette enzyme, ce qui les apparente aux corps de Hassall des mammifères ; les granulocytes basophiles n'accusent pas la présence de l'enzyme et l'auteur envisage l'hypothèse suivant laquelle les corps multicellulaires de Hassall, chez les mammifères, pourraient provenir des masses plasmodiales des reptiles. On entrevoit la portée considérable que cette possibilité revêtirait, en cas de vérification.

L'enzyme thymocytaire, étudiée par BEAUVIEUX (18), agit essentiellement sur le β -glycérophosphate de soude, au pH = 8,6, et à la température de 38°. Cet auteur souligne le fait important pour l'anabolisme général que, par l'intermédiaire des thymocytes, il y a " exportation " vers le sang circulant d'un nourrisson, d'une centaine d'unités BODANSKY de Phosphatase alcaline chaque jour, ce qui équivaut à 1500 unités quotidiennes chez un adulte.

L'enzyme apparaît, dans le Thymus entier lyophilisé de l'Agneau, comme moins active que son homologue acide ; en effet, dans des conditions expérimentales identiques de concentration tissulaire et d'incubation, il y a seulement 6 p. 100 (au lieu de 11) de substrat hydrolysé (BALLADE et coll., 14). Si l'on évalue l'activité de la Phosphatase alcaline dans des noyaux cellulaires isolés, on obtient ainsi un des critères de la pureté de la préparation nucléaire (ALLFREY et coll., 9). Exprimée en μ g. de phénolphthaléine libérée par mg de tissu et par heure à 37° C, cette activité est de 37 pour le cytoplasme et de 0,17 pour le noyau du Thymus de Veau (STERN et coll., 214). Entre le 1er et le 2ème jour de la vie, chez le Rat Sprague-Dawley, l'enzyme thymique voit son activité multipliée par 10 environ, puis revenir à environ 2,5 fois sa valeur initiale, le 21ème jour (GREENBERG et COLE, 95). Exprimée en unités KING-ARMSTRONG, par gramme de tissu frais, l'activité de l'enzyme est de 1,9 ($\pm$ 0,8) et de 2,0 ($\pm$ 0,5) dans le Thymus de Souris âgées de 3 mois et appartenant à deux races différentes (METCALF et coll., 151). L'action

des rayons X a été ainsi étudiée : des Rats mâles Wistar, âgés de 2 mois environ, reçoivent une irradiation de 500 R, puis sont sacrifiés à différents intervalles de temps après ce traitement ; on constate alors que l'activité de la Phosphatase alcaline du Thymus augmente quelques heures après l'irradiation ; son maximum, soit 4 fois environ sa valeur à la 12ème heure, est atteint au cours du 2ème jour ; elle se maintient à ce niveau jusqu'au 4ème jour, puis elle s'abaisse à son taux normal à la fin de la 1ère semaine. Au cours de la 4ème semaine, il se produit un doublement de l'activité, qui ne paraît pas encore bien expliqué (LUDEWIG et CHANUTIN, 135).

L'action, déjà rencontrée à propos des Estérases, des rayons γ sur un organisme animal, à l'aide d'une source à ^{60}Co , fournit également des observations concernant la Phosphatase alcaline du Thymus ; avec une seule dose de 400 R, l'enzyme non spécifique réagit fortement dans l'endothélium des grosses veines médullaires, chez la Souris (SMITH et coll., 154). L'irradiation, imposée à des souris de la race C 57 BL, permet d'opposer le Thymus traité, dans lequel l'enzyme apparaît dans certaines sections du cortex ou à travers les lobes entiers, et le Thymus normal dont les lymphocytes corticaux sont négatifs (SMITH, 206) ; en outre, l'évaluation de l'activité enzymatique s'accroît avec le temps.

Quelles répercussions peuvent avoir sur la Phosphatase alcaline du Thymus du Rat, certains effecteurs expérimentaux aussi divers que l'exposition au froid, la mise en état d'anoxie, ou l'application cutanée de formaldéhyde ? Les réponses diffèrent avec le substrat (HERLANT et TIMIRAS, 101) : avec le fructose diphosphate ou le glycérophosphate, il y a activation de l'enzyme, mais avec l'acide nucléique de la levure, l'activation n'apparaît pas. Un parallélisme semble exister entre l'activité du ferment et l'accroissement du métabolisme cellulaire pendant l'exposition de l'animal à l'agression expérimentale.

L'influence du propionate de testostérone sur la Phosphatase alcaline est la suivante : Cette hormone a été injectée à des œufs Leghorn blancs, à la dose de 2,5 mg dans de l'huile de sésame, les 10è, 11è et 12è jours de l'incubation ; le Thymus est extrait les 13è, 15è et 18è jours du développement embryonnaire et on y recherche l'enzyme par la méthode de Gomori : aucune activité n'apparaît dans le Thymus et dans la capsule qui l'entoure, aussi bien chez les embryons traités que chez les témoins ; exceptionnellement, certains vaisseaux sanguins du Thymus s'avèrent modérément positifs (ACKERMAN et KNOUFF, 2). Dans une autre série d'essais, on pratique des coupes sur des embryons de poulets après 5 à 11 jours d'incubation : le mésenchyme entourant le Thymus est négatif ou faiblement positif tandis que le primordium

thymique présente une légère activité localisée dans les cellules réticulo-épithéliales (KING et coll. 116). Enfin le propionate de testostérone ne modifie pas la distribution et l'intensité de la Phosphatase alcaline dans les Thymus des embryons traités par rapport aux témoins ; les corpuscules de Hassall paraissent recéler l'activité maxima (KING et coll., 117).

Des Rats traités à la gonadotrophine chorionique, présentent, dans leur Thymus involué, une forte activation de la Phosphatase alcaline, surtout dans le cortex glandulaire (FIORI, 77). Des rats, encore, ont reçu par la voie sous cutanée, de la cortisone (6 mg), de l'hydrocortisone (6 mg), de la désoxycorticostérone (3 mg) ou de l'ACTH (4 mg). Une injection unique fait passer, en 6 heures, la " moyenne de l'évaluation ", respectivement de 1,4 à 1,6 et 1,4 à 1,6 de 1,5 à 3,3 et de 3,0 à 3,4 . Il y a également activation de la Phosphatase alcaline si les 3 premiers de ces effecteurs hormonaux sont administrés pendant 7 jours consécutifs, chaque jour comportant 2 injections égales totalisant 1 mg, ou si l'ACTH est administrée de la même manière pendant 4 jours consécutifs seulement (LEE et DOMM, 132). Chez des Souris de la race AKR, présentant de l'hyperplasie médullaire, l'activité de l'enzyme thymique atteint 2,3 ($\pm 0,5$) unités KING-ARMSTRONG, chiffre significativement plus élevé que chez le sujet normal (METCALF et coll., 151).

L'acide adénosine-mono-phosphorique est hydrolysé par une AMP-ase contenue dans le Thymus lyophilisé de l'Agneau ; en une heure d'incubation, cette activité se chiffre à 26 p. 100 d'hydrolyse avec une dilution enzymatique de 1/50 (OGIER et coll. 162). En ce qui concerne sa localisation, l'Adénosine-mono-phosphatase a été détectée dans les noyaux du Thymus du Rat ; son pH optimum est de 8,5 (BANKOWSKI et VORBRODT, 15). Sur des Souris mâles âgées de 4 semaines, les rayons du ^{60}Co , à la dose de 400 R, provoquent une forte réaction de l'Adénosine-5-phosphatase dans l'endothélium des grosses veines médullaires du Thymus (SMITH et coll., 208). Ce rayonnement du ^{60}Co voit à son tour sa propre influence modifiée par certains agents chimiques : si des Rats reçoivent avant l'irradiation, l'un des produits suivants : p-amino-propio-phénone, cystéine, mercapto-éthyl-amine, l'activation de l'enzyme par l'irradiation ultérieure se trouvera amoindrie dans le Thymus (PETERSEN et DUBOIS, 174) ; en outre, le pouvoir protecteur de chaque composé est en relation directe avec son aptitude à diminuer l'activation enzymatique ; la p-amino-propio-phénone est le plus actif des trois agents essayés.

L'activité de l'Adénosine-mono-phosphatase se trouve inhibée par l'acide p-chloro-mercuro-benzoïque, si l'on ajoute celui-ci au milieu d'incubation jusqu'à la concentration finale de 0,0025 M ; l'activité de l'enzyme paraît donc conditionnée par la

présence de groupes - SH (BANKOWSKI et VORBRODT, 15). Inversement, le ferment est renforcé par la méthyl-bis (2-chloro-éthyl)-amine administrée à des Souris et à des Rats, en injections intra-péritonéales, à des doses sub-léthales ; une relation apparaît entre les quantités de produit injectées et l'activation de l'enzyme ; le maximum est atteint 3 à 4 jours après l'injection (DUBOIS et coll., 69).

L'Adénylique-5-phosphatase étudiée par STERN et coll., (214) possède une activité onze fois plus intense dans le cytoplasme que dans le noyau ; l'Adénylique-3-phosphatase est de 9 à 10 fois plus active dans le cytoplasme que dans le noyau ; dans les deux cas, il s'agit d'homogénats de Thymus de Veau. Chez le Rat et la Souris, l'aptitude du Thymus à hydrolyser l'acide 5-adénylique, varie sous l'influence de doses expérimentales sub-léthales de rayons X préalablement administrées à l'animal vivant: elle augmente avec évidence 3 heures après l'irradiation, et le maximum est atteint vers la 72ème heure. Pour des doses comprises entre 100 et 400 R, il y a une proportionnalité directe entre les doses d'exposition et l'augmentation d'activité de cette Nucléotidase (DUBOIS et PETERSEN, 68).

Sous le nom de Dialkyl-fluoro-phosphatase, il faut sans doute entrevoir plusieurs espèces d'enzymes. Elles ont été étudiées par la méthode de WARBURG, avec, pour substrat, une solution de di-iso-propyl-fluorophosphate ($10^{-2}M$). Leur activité peut s'exprimer par le nombre de μl de CO_2 dégagé par 1g de tissu frais en 30 minutes; le Thymus du Rat fournit 1800, 1100 et 3500 μl ; l'addition de $10^{-3}M$ de Mn^{++} ou de Co^{++} influe sur les résultats et on peut définir une activité relative, c'est à dire : le rapport de l'activité avec ions, à l'activité sans ions ; avec Mn^{++} , le rapport d'activité s'établit à 4,4 - 6,2 et 2,6 ; avec Co^{++} , on trouve 1,7 - 1,8 et 1,4 (MOUNTER et coll., 154).

C - PHOSPHO-DI-ESTERASES -

Dans des préparations de Cathepsine, effectuées à partir du Thymus de Veau, se trouvent des Nucléases ; leur action a lieu surtout à pH = 4,5 sur l'acide désoxy-ribonucléique, et à pH = 5 - 5,5 sur l'acide ribonucléique ; elles diffèrent donc des Nucléases pancréatiques en ce que leurs pH optimum sont acides, et non alcalins. En outre, elles sont activées par la cystéine ; elles sont inhibées par $SO_4 Mg$ à des concentrations qui activent la DN-ase pancréatique, ainsi que par le p-chloro-mercuri-benzoate (MAVER et GRECO, 149).

Le Thymus contient, entre autres enzymes hydrolysantes, une Dépolymérase capable de désintégrer l'acide désoxy-ribonucléique (TORO, 225). Par fractionnement des cellules en milieu

aqueux, on peut étudier la distribution des Nucléo-dépolymérases, qui ne coïncide pas entièrement avec la répartition connue des substrats (BROWN et coll., 51), Trois Nucléo-dépolymérase s thymiques se révèlent sensibles à une irradiation unique de rayons X; chez des Souris ayant reçu 160 R, ces enzymes sont activées réversiblement en quelques heures, puis elles se retrouvent inférieures à la normale au 7ème jour qui suit le traitement ; en outre, l'injection de 0,75 mg d'hydrocortisone déclenche, d'une part une diminution pondérale du Thymus en 24 heures, d'autre part une activation dépolymérasique inférieure à celle constatée après l'irradiation (WEYMOUTH, 233).

Dans une préparation de Nucléo-dépolymérase, provenant du Thymus frais de Veau, on peut déceler d'appréciables quantités de Ribonucléase (LASKOWSKI et coll. 130); cette enzyme peut être purifiée par chromatographie, également à partir du Thymus de Veau (BERNARDI, 24) où elle est en partie, énergiquement fixée par les noyaux cellulaires (BROWN et coll., 51). Son activité a été évaluée dans plusieurs tissus du Rat ; elle peut être exprimée en unités qui représentent la densité optique correspondant à la fraction acido-soluble libérée à partir de l'ARN, par gramme d'organe, en 30 minutes et à 37° C ; l'étude a lieu aux pH de 5,8 et de 8,2 car il y a 2 sommets d'activité ; c'est ainsi que, pour le Thymus, l'enzyme acide a une activité de 477, l'alcalin 1963, ce qui donne un rapport de 3,6 tandis que, dans la rate par exemple, les chiffres correspondants s'établissent à 900, à 3.887 et à 4,3 (LAMIRANDE et ALLARD, 126). A noter l'absence d'action de certains effecteurs expérimentaux (ions Ca^{++} et Mg^{++} , cystéine) sur ce ferment (BROWN et coll., 51).

On sait depuis le début de ce siècle, que certains extraits tissulaires (Thymus, foie, rate) ont le pouvoir de liquéfier les gels d'acide désoxy-ribonucléique (94, 146), ce qui révèle une Désoxy-ribonucléase ; c'est une des enzymes thymiques les plus étudiées. Une méthode de purification partielle à partir du Thymus de Veau, comporte une séparation par HCl (0,1N) suivie d'une concentration et d'un fractionnement dans l'éthanol (Mc DONALD, 139). Un autre mode d'obtention comprend plusieurs étapes, avec des précipitations par le sulfate d'ammonium à différentes concentrations, puis la chromatographie sur phosphate de calcium ; le rendement est bon et la préparation enzymatique possède une activité spécifique élevée (FREDERICQ et OTH, 82). Une purification poussée des DN-ases du Thymus et de divers autres organes a été obtenue par chromatographie sur hydroxylapatite. Ces enzymes, d'origine intra-cellulaire, présentent une très grande analogie entre eux (FREDERICQ et coll., 83). Une DN-ase II, provenant de Thymus frais de Veau, ne présente pas d'activité phosphatase, mais renferme, ainsi que nous l'avons noté plus haut ,

d'appréciables quantités de Ribonucléase (LASKOWSKI et coll., 130). Une Désoxy-ribonucléase issue de Thymus de Veau, possède l'aptitude à dégrader l'ADN à peu près de la même manière que le font les érythrocytes de Poulet purifiés (BERNARDI et SANDRON, 25).

L'activité de la DN-ase est connue dans plusieurs organes choisis dans différentes espèces animales, en particulier dans le Thymus de Veau ; elle peut s'exprimer en μg de P-DN acido-soluble libéré en une heure par un mg de tissu à 35° ; si le pH du milieu d'incubation varie de 4,7 à 5,3 et à 5,7 les résultats s'établissent à 1,6 à 1,9 et 1,1. Dans le cas particulier du Veau, le Thymus et le pancréas possèdent les mêmes concentrations de DN-ase, alors que la rate en est environ trois fois plus riche (ALLFREY et MIRSKY, 6).

Ainsi que nous l'avons signalé pour d'autres enzymes thymiques, l'action des rayons X a été recherchée sur la DN-ase II : une dose léthale administrée à des rats active l'enzyme, par unité de poids du Thymus ; cette activation est attribuée en partie à une localisation dans les cellules radio-résistantes qui survivent 24 heures après l'exposition ; ces cellules sont classées comme réticulaires et macrophages (ALDRIDGE et coll., 4). Deux heures après une irradiation par 700 R de rayons X, l'activité spécifique de la DN-ase commence à s'intensifier, et davantage encore au bout de six heures ; la question se pose de savoir si ces modifications enzymatiques se seraient pas que le reflet " d'un changement de population cellulaire " au niveau du Thymus en raison de la proportion croissante des cellules réticulaires, plus radio-résistantes que les thymocytes (GOUTIER et coll., 94). Des rats mâles, de 180 à 200 g., sont traités à la cystéine, puis ils reçoivent, ainsi que des Rats témoins, une dose de 756 R de rayons X ; dans les deux cas, l'activité spécifique de l'enzyme se trouve doublée en 24 heures. Rapportée au mg de tissu frais, cette activité est essentiellement comparable dans la pulpe et dans le tissu connectif du Thymus et même de la rate de l'animal normal, et elle accuse une augmentation parallèle dans les deux fractions, après irradiation (OKADA et coll., 163). Si la dose léthale est répartie sur la totalité du corps de Souris, la DN-ase se trouve rapidement activée par cellule, dans le Thymus et dans certains organes (KURNICK et coll., 124). La durée d'action de l'irradiation semble se manifester ainsi : ramenée à l'unité de poids de tissu frais, l'activité enzymatique reste élevée dans le Thymus et dans la rate du Rat, pendant les 3 jours qui suivent le traitement, et elle redescend à la normale après 7 jours environ ; quant à l'activité totale, elle baisse au tiers de celle des témoins vers le 7ème jour (GORDON et coll., 92).

Voici maintenant des caractéristiques chimiques de la Désoxy-ribonucléase du Thymus : un optimum d'activité se situe vers un pH de 5 (CUNNINGHAM et LASKOWSKI, 60). A ce pH, la DN-ase thymique présente la même capacité d'hydrolyse que la DN-ase du foie et de la rate : activité faible pour une normalité logarithmique des cations de l'ordre de -3 , présentant un sommet pour des normalités comprises entre -2 et -1 , et redevenant très faible entre -1 et 0 ; les auteurs ont testé de nombreux sels parmi lesquels les chlorures de calcium, de magnésium, de sodium et de potassium, puis les sulfates de sodium et de magnésium, ainsi que les acétate et citrate de sodium ; à un second pH de 7, l'activité enzymatique présente son maximum pour des normalités voisines de -3 à -2 et son minimum vers -1 , les sels essayés étant les chlorures de sodium et de magnésium ; les extraits thymiques ont un sommet d'activité à un pH voisin de 7, dans le Cl_2Mg (0,01 M) (SHACK, 198). L'enzyme est très stable dans un tampon phosphate 0,1 M, même à très haute dilution ; cependant, elle perd ses propriétés dans l'eau pure ; c'est à des pH de 4,5 ou 5 que son activité paraît la plus vive (FREDERICK et OTH, 81 ; SCHMIDT, 196 ; CUNNINGHAM et LASKOWSKI, 60) ; le sulfate de magnésium l'inhibe à la concentration de 0,05 M ; dans certaines conditions de molarité, l'ion Mg^{++} suspend l'action de la DN-ase thymique, alors qu'il augmente celle de la DN-ase pancréatique (BROWN et coll., 51).

Actions d'effecteurs organiques : chez le Rat, l'hydrocortisone active l'enzyme in vivo, si elle est injectée en 3 doses de 5 mg, et in vitro (CSEH et coll., 58 et 59). L'injection d'acétate de cortisone renforce le ferment, à peu près comme le ferait une dose sub-léthale de rayons X sur tout le corps (GORDON et coll., 92). La Désoxy-corticostérone, au contraire, affaiblit la DN-ase, mais seulement in vivo ; à ces changements de l'activité enzymatique, correspondent des variations dans la teneur en acide désoxy-ribonucléique et dans le poids de l'organe (CSEH et coll., 59).

Chez la Souris, la DN-ase thymique voit son activité multipliée par 5 ou 6 au cours de la maturation ; ce phénomène, constaté en outre dans d'autres organes, conduirait à attribuer un rôle catabolique au système enzymatique qui réduirait le taux de la croissance avec l'âge ; une influence hormonale sur l'activité de l'enzyme serait possible car la DN-ase s'intensifie pendant la période où le taux de croissance est le plus élevé (KURNICK et KERNEN, 123).

La dégradation de l'ADN par la DN-ase thymique peut être suivie à l'aide de méthodes viscosimétriques (SIEBERT et coll., 200), par identification des produits acido-solubles qui se sont formés, par la spectrophotométrie et par la mesure du pH ;

l'hydrolyse apparaît influencée par les concentrations de l'enzyme et du substrat (OTH et coll., 169). Quels sont les produits de l'action de la DN-ase thymique ? Ce sont les acides adénylique et guanylique , alors que la DN-ase pancréatique donne les acides thymidylique et cytidylique ; l'enzyme du Thymus fournit en supplément l'acide thymidylique identifiable par rechromatographie ou par ionophorie (PRIVAT DE GARILHE et LASKOWSKI, 179 et 180); ces auteurs ont comparé entre elles les activités de la Désoxy-ribonucléase du Thymus et de la rate (DN-ase II) et celles de son homologue pancréatique (DN-ase I) : l'hydrolyse de l'ADN par la DN-ase II fournit des oligo-nucléotides d'un poids moléculaire plus élevé que ceux fournis par l'action de la DN-ase I ; les produits d'hydrolyse par la DN-ase II contiennent une proportion de di et de tri-nucléotides beaucoup plus faible que dans le cas de la DN-ase I ; en outre, la DN-ase I agit sur les grands oligo-nucléotides issus de l'hydrolyse par la DN-ase II, alors que l'inverse n'a pas lieu ; les auteurs en arrivent à la conclusion que moins nombreuses sont, dans l'ADN, les liaisons sensibles à la DN-ase II qu'à la DN-ase I. Dans une étude plus récente (131), LAURILA et LASKOWSKI identifient, dans les produits d'hydrolyse de l'ADN par la DN-ase II, des fragments de dimensions variables: les plus petits sont des 3' -mono-nucléotides ; s'y trouvent également plusieurs di-nucléotides et un tri-nucléotide.

On ne peut manquer de constater le nombre et la précision des travaux publiés sur la Désoxy-ribonucléase du Thymus; aucune autre enzyme de cette glande n'est aussi bien connue ; cependant, d'innombrables conditions expérimentales n'ont pas encore été mises en œuvre ; l'étude des conditions pathologiques du fonctionnement thymique n'est pour ainsi dire pas même commencée. Il y a donc, là comme en beaucoup d'autres domaines, un programme considérable d'observations, d'expérimentations et de corrélations, à entreprendre.

Une Désoxy-pentose-nucléase thymique se trouve associée à des composants cytoplasmiques, mais n'est présente qu'en faible quantité dans les facteurs nucléaires ; cette apparence n'est peut-être qu'un artefact venant de l'absorption des enzymes cytoplasmiques dans le fractionnement. Vers un pH de 5, son activité passe par un maximum, puis elle devient nulle dans la zone 7 - 7,5 ainsi que par dialyse ; de faibles concentrations d'ions métalliques restaurent son activité, tandis que des concentrations plus élevées se révèlent inhibitrices ; ne sont pas inhibiteurs, entre autres effecteurs, le citrate et le fluorure de sodium, l'arséniate et le borate, l'hydrogène sulfuré et l'eau oxygénée (WEBB, 230, 231, 232).

D - SULFATASES -

Le comportement de l'Arylsulfatase dans le Thymus du Rat mâle a fait l'objet de recherches préliminaires par SACHS et coll., (189) ; le substrat est le sulfate de nitrocatéchol et l'essai a lieu à pH = 5,0 ; les animaux avaient reçu, en injections sous-cutanées, du cortisol et de l'hémi-succinate de cortisol ; l'activité spécifique de l'enzyme se trouve accrue dans les homogénats thymiques provenant de Rats traités au cortisol ; les auteurs annoncent des précisions ultérieures.

La Phénolsulfatase thymique se trouve activée chez le Rat mâle carencé en vitamine E ; sur le même animal, la thyro-parathyroïdectomie affaiblit légèrement cette enzyme dans le Thymus, alors qu'il y a une activation dans le sérum et les surrénales, et une forte baisse dans le foie et dans les reins (KODAMA, 119 et 120).

Classe II - GLUCOSIDASES - Le Thymus de l'Agneau contient de la β -glucuronidase, douée d'une très vive activité : une suspension thymique, à la dilution de 1/3000 est capable d'hydrolyser 12 p. 100 d'une solution de phénolphtaléine-glucuronide (0,0005 M) en 24 heures (BALLADE et coll., 14). L'activité de l'enzyme du Veau, comparée dans plusieurs organes, est moyenne, dans le Thymus, étant précisé que, dans cette glande, le cytoplasme est 20 fois plus actif que le noyau (STERN et coll., 214). Cette enzyme est sensible aux rayons X ; des rats albinos mâles, pesant de 69 à 130 g, reçoivent, en une seule fois et sur tout le corps, des doses de 200 - 400 et 600 r ; après sacrifice des animaux, on prélève le Thymus et l'on y détermine l'activité de la β -glucuronidase avec le phénolphtaléine-glucuronide pour substrat, à un pH de 5,2. On trouve alors que l'activité de l'enzyme croît nettement 1 jour après l'irradiation, présente un maximum au bout de 2 jours après 200 R, ou au bout de 3 jours après 400 et 600 R ; au bout de 7 jours, les valeurs trouvées sont redescendues aux environs de la normale. L'accroissement de l'activité s'expliquerait partiellement par la suppression d'un inhibiteur de l'enzyme, inhibiteur qui est présent dans le tissu lymphatique normal. Il convient en outre de noter que l'activation de la β -glucuronidase peut être produite par le jeûne (PELLEGRINO et VILLANI, 173). D'autre part, on a enregistré les résultats suivants chez des rats soumis à une irradiation de tout le corps : après 200 R, l'activité enzymatique spécifique baisse légèrement dans les 5 heures qui suivent le traitement, puis survient une augmentation de près de 3 fois par rapport aux témoins, en 24 heures ; après 2 jours, on note une tendance à la baisse ; s'il s'agit d'une dose de 1000 r, l'augmentation de l'activité spécifique en 48 heures est plus importante qu'avec une dose d'irradiation 5 fois moindre. Quant au pourcentage de l'activité libre, il ne semble pas modifié par le traitement (RAHMAN, 181).

Le jeûne, infligé pendant 96 heures à des Rats mâles jeunes, active vivement la β -glucuronidase du Thymus, de 5920 unités à 16.400 par gramme de poids frais ; mais il est à noter que la quantité totale d'enzyme, par organe, tombe de 1.155 à 918 unités. La surrénalectomie, pratiquée 96 heures auparavant sur des Rats mâles jeunes également, laisse inchangée à 5.800 unités contre 5.920 l'activité par gramme de tissu frais, mais augmente légèrement de 1.155 à 1.526 unités, la quantité totale d'enzyme par organe (PELLEGRINO et VILLANI, 172).

Des Rats mâles reçoivent 2 injections sous-cutanées de chacune 10 mg pour 100 g de poids corporel, de stéroïdes cortico-surrénaux : le cortisol augmente, dans les homogénats thymiques, l'activité enzymatique libre de 23,5 μ g de phénolphtaléine libérée en 1 heure par 1 mg de protéine tissulaire, à 60,9 μ g et l'activité enzymatique totale de 55,6 à 110,2 μ g. L'hémi-succinate de cortisol donne les deux taux respectifs de 39,4 et de 73,7 μ g (SACHS et coll., 189). Enfin, le dosage de l'activité de la β -glucuronidase thymique au cours de l'autolyse, montre qu'elle ne varie pas pendant une période de 7 jours (PELLEGRINO et VILLANI, 171).

Des thymomes humains ont montré que le cytoplasme des cellules tumorales présente une β -glucuronidase plus active que le stroma ; si certains noyaux ne réagissaient pas, la plupart cependant se coloraient en bleu clair ; dans un autre cas de thymome, " le cytoplasme des cellules néoplasiques réagissait intensément. La plupart des noyaux ne réagissaient pas ou vaguement, tandis que certains se coloraient en bleu clair " (FISHMAN et coll., 79 et WACHSTEIN, 226).

L'étude des Amylases, entreprise comparativement sur le Thymus, le sang, le sérum, le cerveau et la rate, chez les animaux supérieurs, contribuera à des travaux d'anthropologie universelle (Von EULER et HASSELQUIST, 74).

Classe III - AMINASES et AMIDASES - Une étude comparative, dans le Thymus du Rat Sprague-Dawley, montre certains comportements enzymatiques en fonction de l'âge de l'animal : la Leucyl-amidase est 5 fois plus active le 2ème jour que le 1er, puis elle retombe à peu près à sa valeur initiale le 21ème jour ; la Glycyl-amidase, nulle le 1er jour, devient assez active le 2ème jour, puis disparaît vers le 14ème jour ; l'Alanyl-amidase s'accroît environ de 4 fois entre le 1er et le 2ème jour, puis revient à peu près à sa valeur initiale le 21ème jour ; enfin la Phényl-alanyl-amidase est multipliée par 7, puis revient à un taux légèrement supérieur à sa valeur de départ, aux mêmes moments de la vie ; ces changements d'activités enzymatiques paraissent correspondre à des modifications de la population des grands thymocytes et sont probablement en relation avec le développement du

système d'immunisation (GREENBERG et COLE, 95). Les noyaux cellulaires du Thymus de Veau contiennent de l'Adénosine-désaminase ; les noyaux sont d'abord isolés en milieu saccharose puis extraits avec des solvants organiques : on constate que ces opérations n'inactivent pas l'enzyme ; celle-ci a en outre une activité sensiblement égale, qu'elle provienne de noyaux isolés dans du saccharose ou isolés en milieu non aqueux (STERN et MIRSKY, 216). Exprimée en μg d'adénine désaminée par 1 mg de tissu en 10 minutes à 37° 5, la capacité hydrolysante du ferment est de 53 pour le noyau et de 80 pour le cytoplasme (STERN et coll., 214).

L'activité spécifique de la Désoxy-cytidylate-désaminase est connue dans le Thymus du Rat Wistar, âgé de 6 à 8 semaines ; elle peut s'exprimer en μmoles de désoxy-MPC désaminé en 20 minutes par 1 mg de protéine tissulaire, à 37° C : elle est de 0,42 contre 0,86 dans le carcinome hépatique humain, 0,26 dans l'hépatome de Novikoff et 0,06 à 0,02 dans le foie du Rat en cours de régénérescence ; ces deux dernières valeurs ont été trouvées 24 heures et 7 jours après hépatectomie partielle (MALEY et MALEY, 144).

La Glutaminase-phospho-activée présente un taux d'activité très élevé dans les thymolymphosarcomes transplantés où elle excède de 7 fois son niveau dans le Thymus normal ; l'enzyme s'avère de plus en plus active, au fur et à mesure qu'une tumeur solide transplantée croît pondéralement (JUN-SHENG T' AN, 110). Les propriétés cinétiques de la Glutaminase-phospho-activée, dans les mitochondries du Thymus normal et du thymolymphosarcome, ne présentent pas de différences significatives en ce qui concerne les pH optimum et l'action des inhibiteurs ou des activateurs. Certains dérivés synthétiques de la glutamine restent inaltérés aussi bien par l'enzyme en provenance de tissus normaux que de tissus tumoraux (TE-CHEN CHAO et SHIH-O LI, 223).

Classe IV - PEPTIDASES - L'activité peptidasique du Thymus, calculée par unités de poids du tissu, n'est pas influencée par la surrénalectomie, et elle s'avère plus élevée chez le Rat jeune que chez l'animal plus âgé (BIRMINGHAM et DEBARATS, 29).

La Cathepsine B peut être déterminée en mesurant l'ammoniac libéré après une heure à 38°, en tampon citraté à pH = 5,3, en présence de cystéine (0,10 M) comme activateur ; la détermination de la Cathepsine C se ferait par la même méthode, mais en utilisant le glycyl-phényl-amide à la place du benzoyl-arginyl-amide (BOUMA et GRUBER, 48).

Des enzymes protéolytiques ou Cathepsine D, contenues dans des homogénats de Thymus de Rat, se révèlent plus actives que celles du foie et surtout du muscle, lorsque le substrat est de l'hémoglobine (NAGEL et WILLIG, 158). La Cathepsine D

peut être évaluée par la méthode de GIANETTO et De DUVE modifiée (BOUMA et GRUBER, 48) ; le substrat est l'hémoglobine et l'on opère à la longueur d'onde de 280 m μ . On a vu, pour d'autres hydrolases, qu'elles sont sensibles à l'action des rayons de Roëntgen. La Cathepsine du Thymus n'échappe pas à cette loi : elle est activée par l'irradiation ; chez l'animal préalablement traité à la cystéamine, on enregistre un "dose reduction factor" de l'ordre de 1 vers la 24ème heure qui suit l'exposition aux rayons, et d'environ 2 après la 72ème heure ; ce dernier facteur peut être mis en parallèle avec le taux de survie après 30 jours ; les mêmes observations sont possibles avec la rate (HAGEN et coll., 99).

Le pH optimum de ce ferment thymique est franchement acide, au moins pour certains substrats. Deux préparations nucléoprotéiniques sont soumises à l'hydrolyse par la Cathepsine du Thymus de Veau : il apparaît deux pics, l'un à 4 et l'autre à 5,5 (MAVER et GRECO, 148). Si l'on fait attaquer l'hémoglobine, un étroit sommet se dessine à 3,5 comme d'ailleurs avec le muscle et le foie du Rat ; un second optimum se situe entre 4,5 et 5,0 par addition de Triton X-100 (NAGEL et WILLIG, 158).

En prenant l'hémoglobine comme substrat, et en le faisant hydrolyser par des préparations de Cathepsine thymique du Veau, on peut évaluer l'activité de cette enzyme par la mesure de la quantité d'azote non-protéique et de tyrosine libérés ; on s'aperçoit alors que le ferment est inhibé par les réactifs testant le groupe sulfhydryl et par les p-chloromercuro-benzoates (MAVER et GRECO, 147) ; qu'il n'est pas activé par les composés contenant le sulfhydryl (NAGEL et WILLIG, 158). L'hydrolyse de l'hémoglobine est plus rapide par les Cathepsines de la rate que par celles du Thymus ; ces dernières se montrent moins sensibles aux inhibiteurs que les premières. Notons enfin que, outre l'hydrolyse de la protéine des nucléoprotéines, les Cathepsines thymiques dépolymérisent l'ADN libéré (MAVER et GRECO, 148). La Cathepsine D, étudiée par NAGEL et WILLIG (158), est renforcée de 42 % par l'état de faim aiguë imposée à l'animal, et de 49 % par l'administration de prednisolone. Des Rats mâles ont reçu 2 injections sous-cutanées de chacune 10 mg de cortisol pour 100 g de poids corporel ; la Cathepsine est ensuite étudiée dans les homogénats des Thymus, avec l'hémoglobine pour substrat, et à un pH de 3,6 ; son activité spécifique se révèle accrue par rapport à celle des témoins ; des précisions seront données ultérieurement par les auteurs (SACHS et coll., 189).

La Leucine-Amino-Peptidase se montre peu active dans le Thymus de Souris âgées de 1 jour à 6 mois. Elle se localise sur la limite extérieure des couches corticales et dans la partie médullaire, alors que l'intérieur de la zone corticale est inactif.

Seules, les cellules réticulées répondent positivement à la détection du ferment; encore est-il à noter que certaines de ces recherches s'avèrent négatives; les corps de Hassall et les lymphocytes paraissent dépourvus de l'enzyme (KORHONEN et RUPONEN, 121). Dans le Thymus lyophilisé de l'Agneau, la L.A.P. est très active, car une suspension thymique à 1/5.000 hydrolyse 14 p. 100 de L-leucyl- β - naphtylamide chlorhydrique (0,0003425 M) en 60 minutes (BALLADE et coll., 14).

Notons que dans des Thymus de Souris, on a trouvé des restes de parathyroïdes réagissant très vivement à la réaction colorée de la Leucine-Amino-Peptidase (SMITH et CLIFFORD, 207).

Au terme d'une incubation de 4 heures, il y a hydrolyse de 37 p. 100 de α -benzoyl-L-arginine-éthyl-ester par une suspension de Thymus lyophilisé d'Agneau au 1/25, indiquant la présence, dans la glande, de la Benzoyl-arginine-éthyl-estérase (OGIER et coll., 162).

Une Dipeptidase apparaît dans une suspension préparée à partir du Thymus de Rats albinos jeunes; dans cette suspension cellulaire contenant de 97 à 99 p. 100 de lymphocytes, l'enzyme, très instable, se détecte immédiatement; une seconde Dipeptidase, plus stable, peut être extraite lentement des cellules, à l'aide d'une solution saline. Il est possible de stabiliser les deux fractions enzymatiques par addition d'une solution de glycérol (PRAETORIUS, 178).

Une hydrolase des tripeptides se trouve dans des extraits salins de Thymus de Veau ; FRUTON et coll. (87) rappelés par SMITH, (209) la décrivent et l'appellent Lymphopeptidase ; son action porte sur la liaison peptidique adjacente au groupe amine libre. L'étude de sa spécificité la fait considérer comme une Amino-exo-tripeptidase. Les auteurs pensent que c'est à elle que certains extraits de sérums ou d'autres tissus doivent leur activité hydrolysante, car cette dernière paraît identique à celle de la Lymphopeptidase. L'hydrolyse ne s'étend qu'aux tripeptides formés de restes d'acides α -aminés. Le ferment peut être notablement purifié à partir du Thymus de Veau, par fractionnements avec l'éthanol et des ions Zn^{++} , à basse température et précipitation par le sulfate d'ammonium (ELLIS et FRUTON, 72 et SMITH, 210). L'hydrolyse par des homogénats de Thymus de Souris est maxima à un pH voisin de 7. Elle est accélérée en présence d'ions Co^{++} et faiblement ralentie par les ions Mg^{++} et Mn^{++} (BIRMINGHAM et GRAD, 30). L'enzyme purifiée à partir du Thymus de Veau, n'exige aucun activateur pour son fonctionnement ; elle est inhibée à 75 p. 100 par la cystéine 0,01 M, à 80 p. 100 par l'ion Hg^{++} 0,001 M et à 95 p. 100 par Cd^{++} 0,001 M également (SMITH, 210). Les substrats de la Leucine-amino-peptidase et de la Protidase, ceux des Cathepsines B et C et ceux des Carboxypeptidases ne sont pas attaqués (ELLIS et FRUTON, 72), mais les suivants lui conviennent à des degrés divers ; en chiffrant par 100

l'action de l'Amino-tripeptidase sur la glycyl-glycyl-glycine, on obtient 88 avec la L-Leucyl-glycyl-glycine, 108 avec la L-alanyl-glycyl-glycine, seulement 40 avec la glycyl-glycyl-L-leucine, enfin 9 avec la glycyl-glycyl-D-leucine. Les dipeptides, les dipeptides-amides, les acyl-tripeptides et les tétra-peptides ne présentent aucune hydrolyse (SMITH, 210). S'il s'agit de la Peptidase du Thymus de Souris normales, agissant sur la triglycine, l'hydrolyse suit les cinétiques du 1er ordre ; le taux d'activité est proportionnel à la concentration tissulaire, quand celle-ci est de l'ordre de 1 à 6 mg par ml (BIRMINGHAM et GRAD, 30). Avec l'âge, la Peptidase du Thymus de la Souris Rockland normale, diminue par unités de poids de la glande (30) ; cette baisse n'a pas lieu chez la Souris Ak ; l'enzyme est d'ailleurs plus active chez cette race que chez la Souris Rockland, aussi bien dans le cas d'animaux jeunes que de sujets âgés (BIRMINGHAM et coll., 31).

Une Amino-polypeptidase active a été préparée à partir d'un Thymus de Veau, et administrée, en même temps que de la vitamine B₁₂, à trois malades souffrant d'anémie pernicieuse : l'hématopoïèse n'en a pas été substantiellement améliorée ; d'autre part, du suc gastrique humain normal, mais neutralisé et frais, en association avec de la vitamine B₁₂, montre un pouvoir activant significatif ; il est à préciser que le suc gastrique humain, qu'il soit frais ou lyophilisé, n'a pas d'activité polypeptidasique (SCHILLING et coll., 195).

Une Protéinase a été détectée dans des histones de Thymus de Veau ; la préparation a lieu par isolement préalable d'une nucléoprotéine thymique, dont les histones sont extraits en milieu acide ; l'enzyme donne naissance à des résidus azotés terminaux qui sont l'alanine, la lysine et la glycine, à un pH optimum de 7 à 8 ; elle est partiellement inhibée par le di-isopropyl-phosphoro-fluorhydrate mM (PHILLIPS et JOHNS, 176). La dégradation de la désoxyribo-nucléo-protéine d'origine thymique, s'accompagne toujours de la perte de sa propriété de former un gel. Deux types d'enzymes peuvent en être responsables : des Nucléases et des Protéases. A 20°, la liquéfaction est totale en 6 heures ; la viscosité intrinsèque de l'ADN constituant a baissé de 62 à 42 dl/g ; la solubilisation de l'histone serait essentiellement le résultat d'une protéolyse (FREDERICQ, 80). Par ailleurs, on a remarqué que la désoxyribo-nucléo-protéine thymique peut, dans certaines circonstances, ne pas former un gel ; deux phénomènes peuvent en être la cause : d'une part, la vitesse de l'appareil mélangeur, car l'ADN se montre fragile en cas d'agitation trop vive ; d'autre part, la présence d'une Protéase qui se révèle ainsi dans la préparation en la liquéfiant lentement, même en l'absence de tout broyage. D'un autre côté, on sait que les noyaux du Thymus sont capables d'hydrolyser certains substrats, tels que la carbobenzoxy-L-glutamyl-L-tyrosine et le N-acétyl-L-tyrosine-éthyl-ester, ce

qui trahit l'existence des Cathepsines A et C et le benzyl-L-arginine-méthyl-ester, ce qui indique l'action de la Cathepsine B (SARKAR et DOUNCE, 190). Toujours dans le même ordre d'idée, une suspension de thymocytes de Rat dans du KREBS-RINGER, a été mélangée à du ClNa , du tampon Tris (0,67 M) et de l'EDTA (0,084 M) à la température ordinaire ; après 5 minutes de repos, la plupart des cellules avaient disparu, puis la viscosité avait augmenté fortement au bout de 100 heures environ ; comparative-ment, des suspensions cellulaires étaient soumises à des rayons X de 300 KV et 1,5 m amp ; après la première minute suivant l'irradiation, l'accroissement de viscosité est insignifiant, mais il s'accélère de telle sorte qu'au bout de 100 heures environ, il atteint à peu près celui des suspensions non-irradiées (MYERS, 156). Il semblerait donc, que suivant les conditions de la préparation, des Protéases puissent, ou non, se trouver dans des conditions optima, en particulier en ce qui concerne la Chymotrypsine et la Trypsine. Dans les histones que l'on peut extraire de la nucléoprotéine thymique par ClH (0,2 N), on retrouve toute l'activité Chymotrypsique, mais pas trace d'activité Trypsique ; par contre, en ajoutant les histones extraits en milieu ClNa (1 M) à pH = 3, on peut retrouver une partie de l'activité Trypsique (EMERY et LESKO, 73).

Classe VI - POLYPHOSPHATASES - Les précisions sont assez nombreuses sur la Pyrophosphatase contenue dans des suspensions thymiques, préparées à partir de la glande du Rat. La centrifugation à la température de 2° C concentre la majeure partie de l'activité enzymatique dans le surnageant. Le taux d'hydrolyse est constant pendant 30 minutes, ce qui a fait choisir un temps de 20 minutes pour l'expérimentation du ferment. Un faible pic d'activité se manifeste à pH = 4, et un second, plus accusé, se situe à pH = 7 (PELLEGRINO et MARTELLI, 170). Un extrait thymique, préparé à pH = 5,2 contient une Pyrophosphatase qui libère 11,8 μm -moles de phosphore (orthophosphate) à partir du pyrophosphate tétrasodique, par mg de protéine et en une minute à 37° (SMIT et STOCKEN, 201). L'ion Mg^{++} , à la concentration de 4 millimoles, renforce l'hydrolyse ; celle-ci est en outre modérément accrue par 8 à 10 millimoles de cystéine, et par une concentration du substrat comprise entre 0,6 et 1 millimole au pH de 7,0 ; Si la concentration tissulaire ne dépasse pas 2,4 mg/ml, il y a proportionnalité directe entre elle et l'activité de la Pyrophosphatase (PELLEGRINO et MARTELLI, 170).

Des suspensions de thymocytes de Rats, préparées dans une solution de KREBS-RINGER tamponnée, sont mises à incuber à 37° et à pH = 7,4 ; certaines de ces suspensions sont soumises à une dose de 1.000 rads de rayons X, puis on évalue l'activité pyrophosphatasique de toutes les suspensions ; la perte d'activité est faible, aussi bien dans les suspensions irradiées que dans

les suspensions témoins, et ceci pour des temps d'incubation échelonnés de une à cinq heures (MYERS et coll., 157).

Des préparations désoxy-ribo-nucléo-protéiniques, isolées de Thymus de Veau, sont capables d'attaquer significativement le tri-phosphate d'adénosine ; cette action est de nature enzymatique et révèle donc la présence de l'Adénosine-triphosphatase dans la préparation étudiée (STERN et coll., 215). Ce ferment est également décelable dans une suspension thymique provenant de Rats et mise à incuber à 37° C ; si l'on fractionne l'homogénat par une centrifugation à basse température (+ 2° C), l'action hydrolysante se retrouve surtout dans la partie sédimentaire (PELLEGRINO et MARTELLI, 170). L'ATPase est détectable dans le noyau cellulaire ; elle l'est aussi dans le cytoplasme, car c'est celle-ci qui peut être responsable de l'hydrolyse de l'ATP nucléaire, dans certaines conditions de conservation (ORD et STOCKEN, 166). La localisation précise au niveau du noyau, semble devoir être dans la membrane, dans le cas du Rat (BANKOWSKI et VORBRODT, 15). Toujours chez le même animal, on observe un taux d'hydrolyse constant pendant 20 minutes, ce qui a fait choisir 15 minutes pour durée des incubations (PELLEGRINO et MARTELLI, 170).

L'activité de l'ATP-ase, évaluée dans le Thymus lyophilisé de l'Agneau, permet d'hydrolyser 11 p. 100 du substrat, en 15 minutes, avec une suspension tissulaire au 1/30 (OGIER et coll., 162).

L'action de l'enzyme a une intensité connue dans le noyau du Thymus de Veau ; exprimée en μg de phosphore libéré par un mg de tissu sec, en une heure à 37°5, elle est de 9,13 dans le cytoplasme et de 0,86 dans le noyau (STERN et coll., 214). Dans le cas du Rat, l'enzyme nucléaire libère environ 90 μm -moles de phosphate inorganique par minute et ramené au mg de phosphore de l'ADN, à 0° (ORD et STOCKEN, 166).

L'influence des rayons X sur l'ATP-ase varie avec la dose appliquée, ce que nous avons déjà vu à propos d'autres enzymes thymiques. Chez des Rats et des Souris exposés à des doses sub-léthales de rayons X, le Thymus se révèle plus apte à hydrolyser l'ATP, que la glande des animaux témoins ; cet accroissement d'activité est évident 3 heures après le traitement, et il atteint son maximum au bout de 72 heures ; l'activité est proportionnelle à la dose irradiante, si celle-ci est comprise entre 25 et 400 R ; ce renforcement d'activité est réversible dans le cas de doses sub-léthales, mais il est irréversible sous l'influence de doses léthales (DUBOIS et PETERSEN, 68). Dans le cas de Souris mâles âgées de 4 semaines, une application de 400 R produite par une source de ^{60}Co , déclenche les modifications suivantes : réponse positive de l'ATP-ase dans l'endothélium des

artères, des capillaires et des veines du Thymus ; dans les 3 jours qui suivent le traitement, c'est-à-dire pendant la phase dégénérative de la glande, il y a activation de l'enzyme ; enfin, vers le 9ème jour (phase régénérative), on constate le retour à la normale de l'ATP-ase et, d'ailleurs des autres ferments (SMITH et coll., 208). Ainsi qu'il a été souligné pour la 5-Nucléotidase, l'activation de l'Adénosine-triphosphatase par irradiation est affaiblie en traitant au préalable le Rat par la p-amino-propio-phénone, par la cystéine ou par la mercapto-éthyl-amine ; le pouvoir protecteur de chacun de ces effecteurs coïncide avec son aptitude à diminuer l'activité enzymatique accrue, et c'est la p-amino-propio-phénone qui paraît le plus efficace des trois agents essayés (PETERSEN et DUBOIS, 174).

Les rayons γ ont une influence bien moindre que les rayons X, sur l'ATP-ase thymique : un homogénat glandulaire, préparé à partir de Rats exposés à 800 R de radiation γ , ne présente que des changements négligeables de l'activité de l'enzyme (THOMSON et coll., 224).

En ce qui concerne la réaction du milieu d'étude, notons que l'enzyme du Thymus du Rat passe par un maximum aigu pour des pH de 7,4 à 7,5 (PELLEGRINO et MARTELLI, 170).

L'ATP-ase se trouve activée par l'ion Mg^{++} à des concentrations de 8 à 10 millimoles et par l'ion Ca^{++} à la concentration de 4 millimoles ; elle est faiblement renforcée par 1 à 2 millimoles de cystéine (PELLEGRINO et MARTELLI, 170). Autres activateurs organiques : la méthyl-bis (2-chloroéthyl)-amine, administrée à des Souris et à des Rats par la voie intra-péritonéale, à des doses sub-léthales, élève l'activité de l'enzyme, dans des proportions qui sont fonction des quantités de produit injecté, et avec un maximum 3 à 4 jours après le traitement ; l'éthyl-bis (2-chloroéthyl)-amine s'avère à la fois plus toxique et plus active dans son action renforçatrice vis-à-vis du ferment (DUBOIS et coll., 69). Si le milieu d'incubation se trouve progressivement enrichi en acide-p-chloromercuri-benzoïque, la concentration finale s'établissant à 0,0025 M, l'ATP-ase nucléaire est inhibée, alors que dans le cytoplasme, on ne constate qu'un faible amoindrissement de son activité (BANKOWSKI et VORBRODT, 15).

La concentration en substrat de 4 millimoles, favorise au maximum l'hydrolyse de l'ATP ; celle-ci est proportionnelle à la concentration tissulaire si cette dernière ne dépasse pas 4mg/ml (PELLEGRINO et MARTELLI, 170).

Plusieurs groupes d'Hydrolases ne sont pas mentionnés : dans cette revue, car nous n'avons pas, jusqu'à ce jour, trouvé de travaux les concernant : citons, entre autres, les Polysaccharidases et les Halogénases dont l'étude serait peut-être fructueuse.

Les influences de l'âge et de l'état pathologique, que nous avons soulignées ci-dessus, chaque fois que cela a été possible, semblent recéler encore d'innombrables faits dont l'observation et la coordination pourraient encore rendre de grands services au praticien pour l'établissement du diagnostic.

CHAPITRE II

TRANSFERASES

En outre des réactions d'hydrolyse, des phénomènes de transfert de radicaux chimiques ont lieu dans les cellules thymiques. Ils ont été relativement peu étudiés et semblent se présenter, aujourd'hui, de la manière suivante :

Classe I - TRANSPHOSPHATASES-

Dans les noyaux du Thymus de Rat, l'activité phosphorylante peut s'évaluer en μm -moles de phosphate transférées en 25 minutes et ramenées au mg de phosphore d'ADN présent dans la réaction : après un premier lavage des noyaux, on a 54 μm -moles, puis 7 seulement après un second lavage (ORD et STOCKEN, 166). Dans le Thymus de Rats préalablement traités par de faibles doses de rayons X, on constate que quelques dizaines de R suffisent pour abolir la phosphorylation dans les noyaux ; après une irradiation de 100 R sur tout le corps, l'activité enzymatique annihilée se restaure au bout d'une centaine d'heures (CREASEY et STOCKEN, 57) ; si la dose de rayons X est de 200 r, on constate encore la radio-sensibilité de la phosphorylation dans les noyaux isolés, et les réactions d'activation qui utilisent l'ATP nucléaire au moment de l'irradiation, sont encore décelables (ORD et STOCKEN, 167). Cette activité du noyau thymique est sensible, en outre, à une irradiation en quelque sorte indirecte : si l'on irradie des feuilles de *Vicia faba*, l'extrait que l'on peut en préparer affaiblit la phosphorylation dans la proportion d'environ 40 p. 100 (KUZIN et coll., 125). Le rayonnement appliqué à des suspensions de noyaux et à faibles doses, arrête également la phosphorylation nucléaire (CREASEY et STOCKEN, 57).

Une Phospho-gluco-mutase doit exister dans les noyaux du Thymus du Rat : en effet, à la température ordinaire, on constate qu'en présence de glucose-1-phosphate, il y a réduction de $0,8 \mu\text{m-moles}$ de NADP^+ par minute par mg de P de l'ADN (ORD et STOCKEN, 166).

L'activité d'une Nucléoside-phosphorylase peut être appréciée par le nombre de μg d'hypo-xanthine libérés par un mg de tissu, en 10 minutes, à la température de $37^\circ 5$; STERN et coll. (214) ont trouvé, comme valeurs correspondantes 7 dans le noyau du Thymus de Veau, et 19 dans le cytoplasme. Cette activité enzymatique n'est pas altérée par la lyophilisation des noyaux isolés en milieu saccharose et par leur extraction avec des solvants organiques ; elle est sensiblement la même dans les noyaux isolés en milieu saccharose et dans les noyaux isolés en milieu non aqueux (STERN et MIRSKY, 216).

Le Thymus du Rat irradié avec 400 R de rayons X, contient une Désoxy-cytidylique-kinase dont l'activité est la moitié de sa normale le 2ème jour après le traitement ; elle fléchit très légèrement jusqu'au 4ème jour, puis se restaure rapidement ; la normale est atteinte au 5ème jour et franchement dépassée au 6ème (SUGINO et coll., 221 et FRANKEL et coll., 84).

Dans les mêmes conditions expérimentales, la Cytidylique-kinase n'a que la moitié de sa valeur normale le 2ème jour ; elle atteint 60. p. 100 le 3è jour et s'y maintient à peu près jusqu'au 5ème jour ; le 6ème jour, elle remonte à 80 p. 100 de sa valeur normale (FRENKEL et coll., 84 et SUGINO et coll., 221).

Nous avons en cours l'étude de la Créatine-Phosphokinase que le Thymus lyophilisé de l'Agneau contient à un taux assez marqué ; en effet, une incubation d'une heure avec une suspension tissulaire au 1/50 métabolise 67 p. 100 du substrat ; au 1/100 l'activité atteint encore 21 p. 100 (OGIER et coll., 162).

Le Thymus de Veau, ainsi d'ailleurs que le foie du Rat, contient une Purine-nucléoside-phosphorylase capable de scinder l'hypoxanthine désoxyribose pour aboutir entre autres produits, au désoxyribose-1-phosphate. Celui-ci est converti en désoxyribose-5-phosphate par un ferment contenu dans le Thymus du Veau, la Phospho-désoxyribo-mutase, qui se trouve également dans le foie du Rat. L'incubation de guanosine avec la préparation enzymatique du Thymus donne, dans les mêmes conditions d'expérience que le HXDR, du ribose-phosphate qui est dégradé par d'autres enzymes présentes dans les préparations (MANSON et LAMPEN, 145 et NORDLIE et LARDY, 160).

Un homogénat de Thymus de Veau, a été soumis à une série de centrifugations et de remises en suspensions, ce qui a fourni plusieurs fractions où a été recherchée la présence de la Désoxy-uridine-monophosphate-kinase : dans le surnageant (A) issu directement du premier homogénat, l'activité de l'enzyme n'apparaît pas ; une nouvelle centrifugation du surnageant (A) donne un second surnageant (B) où l'enzyme se manifeste de manière variable avec la préparation utilisée ; la fraction (B), traitée à son tour, donne des fractions (C) où la d UMP-Kinase se montre assez constante : le culot issu de (A) puis de (B), ajouté à la fraction (C), se montre inhibiteur de l'enzyme (SUGINO et coll., 222).

L'activité de l'Hexokinase thymique a été essayée vis-à-vis du groupe γ -phosphate de l'ATP nucléaire du Thymus de Rat. Au cours de cette expérimentation, il est apparu que les principaux constituants de la fraction nucléotidique extraite du Thymus, en milieu acide, sont l'ATP et l'AMP ; l'ADP n'y figure qu'en faibles proportions (ORD et STOCKEN, 165). Dans les noyaux isolés, ces auteurs ont chiffré à 10 le nombre de μ m-moles du γ -phosphate de l'ATP transférées en une minute, par mg de P de l'ADN, à la température de 0° C (121).

Classe II - TRANSAMINASES - Le Thymus de Veau fournit une enzyme, purifiée partiellement, capable de catalyser l'amination du xanthine-5'-phosphate à partir de la L-glutamine ; le produit de la réaction est le guanosine-5'-monophosphate, auquel s'ajoute du glutamate, du pyrophosphate et de l'adénosine-monophosphate ; l'activité de l'enzyme exige la présence de Mg^{++} , d'un composé thiol, et d'adénosine-triphosphate ; on peut néanmoins, remplacer la L-glutamine par de fortes concentrations de sels d'ammonium, ce qui permet encore une activité partielle (ABRAMS et BENTLEY, 1).

Du Thymus de Veau est traité par une série d'ultra-centrifugations destinées à séparer les différents constituants cellulaires, puis on y détermine l'activité de la Glutamique-oxalacétique-Transaminase par la méthode de LOWRY et de ses collaborateurs (année 1956) ; on trouve par exemple 2,3 μ m-moles par heure et par mg de protéines dans les noyaux, et 14,3 dans les mitochondries (WANG et WANG, 229). La même enzyme, étudiée dans le Thymus lyophilisé de l'Agneau, est capable de métaboliser 9 p. 100 de substrat (α -cétoglutarate + DL-aspartate) en 3 heures, si la suspension thymique utilisée est à la dilution de 1/2000 (BALLADE et coll., 14). Le Thymus du Rat contient, *in vitro*, de la Glutamique-Aspartique-Transaminase dont l'activité mesurée n'est pas celle qui existe dans les thymocytes mais celle qui a passé dans le milieu d'incubation ; aussi le fait de trouver,

dans certains cas, des variations dans les valeurs de cette enzyme, provient d'une modification du passage du ferment dans le liquide réactionnel ; cette modification est déclenchée notamment par les stéroïdes. A des concentrations de l'ordre de $10^{-4}M$, l'enzyme est activée par la testostérone, la progestérone, la désoxy-corticostérone et la 17α -éthyl-19-nortestostérone, mais elle est affaiblie par le cortisol ; les résultats sont d'ailleurs sous la dépendance étroite de la méthode d'analyse suivie et varient grandement avec elle (MONDER et coll., 153). L'âge intervient également pour modifier les résultats obtenus : ces derniers sont plus faibles dans les lymphocytes d'animaux jeunes que dans ceux fournis par des sujets plus âgés. L'addition *in vitro*, d'hydrocortisone à des suspensions de lymphocytes thymiques, provenant de Rats normaux, inhibe ou augmente l'activité de la Transaminase, suivant que l'on travaille sur des animaux pré ou post pubères, respectivement (BLECHER et WHITE, 35).

La Glutamine-pyruvique-transaminase est partiellement connue dans le Thymus lyophilisé de l'Agneau où son activité est très faible ; il faut que la suspension glandulaire soit à la concentration de 1/25, pour que 9 p. 100 du substrat (α -céto-glutarate + DL-alanine) soient métabolisés en 90 minutes (BALLADE et coll., 14). L'activité de cette enzyme, recherchée dans les constituants cellulaires, est de 0,13 μ moles par heure et par mg de protéines dans les noyaux, et de 0,70 dans les mitochondries (WANG et WANG, 229). Si d'autre part, des Rats mâles reçoivent chaque jour, en injections sous-cutanées, 5 mg de cortisol pendant une semaine, on constate que l'enzyme, très peu active chez les témoins, se trouve considérablement renforcée par le traitement : le nombre de millimoles de substrat utilisées par un g de protéine en 1 heure à $38^{\circ}C$, passe de 0,34 ($\pm 0,33$) à 5,5 ($\pm 1,95$). Comme l'indiquent les auteurs (ROSEN et coll., 188) : " la spécificité de cette réponse est démontrée par la faible augmentation (moins de 20 p. 100) de la G.O.T. observée dans des conditions identiques ". Toujours dans les thymocytes du Rat, on constate l'absence de relation entre la Glutamique-alanine-transaminase et les stéroïdes suivants : testostérone, progestérone, désoxy-corticostérone et 17α -éthyl-19-nortestostérone, à la concentration approximative de $10^{-4}M$ (MONDER et coll., 153).

Les rayons X et l'application d'hormone surrénalo-corticotrope ne modifient pas l'activité transaminasique du Thymus de rats âgés de 15 jours, dans les systèmes alanine-acide- α -céto-glutarique et asparagine-acide- α -céto-glutarique, alors que dans le foie, ces deux systèmes se trouvent activés (JOVANOVIC et CIVENSKI, 100).

Des thymocytes de jeunes rats femelles, mis à incuber dans certaines conditions (pré-traitement en milieu hypotonique et

rupture de cellules) avec du désoxy-cytidylate 0,005 M, révèlent la présence d'une Désaminase Désoxy-cytidylique qui perd rapidement une impressionnante proportion de son activité en solution KREBS- RINGER avec du tris ou du tampon phosphate, ou en solution éthylène-diamine-tétra-acétate de sodium (0,01M); la perte d'activité est grandement modifiée si on utilise une solution identique à la précédente mais enrichie avec du désoxy-cytidylate (0,01M). Si les suspensions cellulaires sont traitées par 1000 R de rayons X, la baisse d'activité est beaucoup plus importante au bout de 6 heures d'incubation, que dans le cas de suspensions témoins se trouvant dans les mêmes conditions d'estimation; cette expérience a lieu en solution de KREBS-RINGER tamponnée (pH=7,4) et à 37° (MYERS et coll., 157). Après une dose de 400 R de rayons X, l'activité spécifique de l'enzyme, dans le Thymus en régénérescence, nulle le second jour, retrouve son taux normal le 5^e jour et le dépasse nettement le 6^e (FRENKEL et coll., 84 et SUGINO et coll., 221).

Des noyaux de Thymus ont fourni une enzyme qui synthétise une chaîne poly-adénylique à partir d'adénosine-triphosphate, dans le cadre de l'édification de polynucléotides; le cytosine-triphosphate a une efficacité qui n'est que le dixième de celle de l'ATP, et les triphosphates de guanosine et d'uridine ne sont pas utilisés par les préparations enzymatiques brutes. Les mono et di-phosphates d'adénosine sont incapables de remplacer l'ATP; il semblerait donc que la chaîne du polynucléotide synthétisé comporterait au moins de 25 à 100 unités de nucléotides (EDMONDS et ABRAMS, 71). En examinant le problème de plus près, on s'est aperçu que la glande du Veau a fourni deux enzymes différentes, qui ont été séparées et purifiées à un haut degré (EDMONDS, 70); chacune ne peut incorporer qu'un seul triphosphate dans le polynucléotide final, soit l'adénosine, soit le cytosine-triphosphate; l'enzyme qui utilise 500 moles d'ATP, n'en peut utiliser qu'une seule de CTP; l'autre ferment emprunte au contraire 50 moles de CTP pour une d'ATP. Quant aux triphosphates de guanosine et d'uridine, ils ne sont pas appropriés à l'action de ces enzymes.

Une ADN-nucléotidyltransférase a été purifiée à partir de noyaux isolés de Thymus de Veau et de Lapin, ainsi que de préparations cytoplasmiques de Thymus de Veau; dans les deux cas, il a fallu travailler en milieu non-aqueux; si cette condition opératoire n'est pas respectée, il est impossible de déceler la présence de cette Nucléotidyltransférase (SMITH et KEIR, 211). Par fractionnement acide, puis par traitement au sulfate d'ammonium, on réalise une purification enzymatique qui permet d'en étudier l'activité en présence ou en l'absence de cystéine, et en présence d'un ou de quatre désoxyribonucléoside-5'-triphosphates (KEIR et SMITH, 114). L'enzyme isolée du Thymus de Veau, se

compose de deux fractions: l'ADN-nucléotidyl-transférase replicative qui incorpore des désoxyribonucléotides dans l'ADN de base ou en positions terminales, et l'ADN-nucléotidyl-transférase terminale qui assure des adjonctions aux positions terminales de l'ADN de base. Ces deux enzymes sont nettement influencées par les ions Mg, K et Na; la première est inhibée environ 5 fois plus que la seconde par l'actinomycine D (KEIR et coll., 113).

A partir du Thymus de Veau, a été préparé un complexe de deux activités enzymatiques dont l'une est l'Orotidine - 5'-P-pyrophosphorylase et l'autre l'Orotidine-5'-P-décarboxylase, et qui ont été séparées par électrophorèse sur gel d'amidon. Les deux activités spécifiques de ce complexe sont de 3,5 unités enzymatiques en ce qui concerne la conversion de l'acide orotique en uridine-5'-phosphate, et de 5,6 en ce qui regarde la décarboxylation de l'orotidine-5'-phosphate (KASBEKAR et coll., 112).

CHAPITRE III

OXYDO - REDUCTASES

Cette famille d'enzymes semble avoir été peu examinée dans le Thymus, bien que cette glande, surtout active chez le jeune, puisse être le siège de nombreux phénomènes où les charges électriques joueraient un rôle de premier plan. Quoiqu'il en soit, voici ce que nos recherches bibliographiques nous ont fourni :

Classe I : TRANSHYDROGENASES OXYTROPES.

L'Histaminase a été identifiée dans plusieurs organes prélevés sur des Bovidés en bonne santé. Son activité s'est révélée plus faible dans le Thymus et dans la rate que dans le foie, les poumons et le pancréas, et surtout plus faible que dans les reins (AMBROSI et coll., 10).

Le Thymus de la Souris recèle une 11- β -hydroxy-dés-hydrogénase très peu active, mais qui l'est davantage dans la rate et surtout dans les nodules lymphatiques. Un traitement prolongé de cet animal avec du cortisol augmente de plus de 200 p. 100 l'oxydation de ce produit en cortisone par la glande thymique; l'activité de ce tissu est seule changée par le traitement au cortisol, par opposition à ce qui se passe dans la rate et dans les nodules lymphatiques; cette étude est réalisée par incubation de Thymus avec du cortisol-4- ^{14}C ou de la cortisone-4- ^{14}C . Inversement un traitement avec 0,25 μ moles de tri-iodo-thyronine pendant 4 jours, accroît la conversion de la cortisone en cortisol dans le Thymus (DOUGHERTY et coll., 64 et 65).

Classe II : TRANSHYDROGENASES ANOXYTROPES.

Cette classe semble avoir été assez peu étudiée jusqu'à ce jour. Citons d'abord la Lactico-déshydrogénase du Thymus

lyophilisé de l'Agneau; un homogénat glandulaire à 1/3000 peut métaboliser, en 30 minutes, 14p.100 de pyruvate 0,001 M (BALLADE et coll., 14). La Déshydrogénase malique a été identifiée dans le Thymus du Rat. Lorsque l'animal a été exposé à 800 R de rayons γ , l'homogénat thymique que l'on en peut préparer, ne présente que des variations insignifiantes dans l'activité de l'enzyme (THOMSON et coll., 224).

Le Thymus lyophilisé de l'Agneau fournit de la Glucose-6-phosphate déshydrogénase dont l'activité maxima atteint environ 10p.100 de glucose-6-phosphate sodique métabolisé en 5 minutes par un homogénat à 1/500 (BALLADE et coll., 14). Les noyaux thymiques, isolés à partir de rats Wistar âgés de 4 à 6 semaines, fournissent une G-6-P-déshydrogénase dont l'activité est affaiblie d'un quart environ, si les animaux ont reçu 88 à 100 R de rayons X, 15 minutes auparavant; un stockage de 30 minutes à 0°, avant la centrifugation, accroît de près de 100p.100 l'activité enzymatique de la préparation nucléaire, alors que le glutathion oxydé (0,1 à 1,0mM) abaisse l'activité apparente de l'enzyme; cet effet est considérablement diminué par l'ion Zn (10 μ M). Par la mise en suspension du culot de la centrifugation, suivie d'une seconde centrifugation, le second surnageant fournit une Glucose-6-phosphate-déshydrogénase environ deux fois moins active que dans le premier surnageant (DEAKIN et coll., 62). Cette enzyme se trouve également dans les noyaux thymiques du Veau; lyophilisés en milieu saccharose, puis épuisés par des solvants organiques, ces noyaux montrent que l'enzyme n'est pas inactivée par cet traitement que nous avons déjà mentionné à propos de l'Adénosine-désaminase et de la Nucléoside-phosphorylase; la Glucose-6-phosphate-déshydrogénase se montre plus active dans les noyaux isolés dans du saccharose, que dans les noyaux isolés en milieu non-aqueux (STERN et MIRSKY, 216 et MIRSKY, 152).

Au cours des transferts d'hydrogène intra-cellulaires, le glutathion intervient-il comme accepteur de l'hydrogène provenant du TPN réduit, par l'intermédiaire de la Glutathion-réductase ? Des mesures ont montré que d'une part, les concentrations du glutathion dans le noyau et dans le cytoplasme, sont assez voisines, mais que, d'autre part, l'activité de la Glutathion-réductase nucléaire représente environ 16p.100 de celle du cytoplasme; si on l'exprime en micromoles de GSH formé en 10 minutes par 1 mg de tissu, à 37°C, on trouve les valeurs suivantes: 0,109 pour le Thymus entier, 0,033 pour le noyau cellulaire et 0,210 (valeur calculée) pour le cytoplasme (STERN et TIMONEN, 217). L'activité réductasique est complètement inhibée par le sulfate de zinc 0,1 mM. La Glutathion-réductase est environ 7 fois plus faible dans les noyaux thymiques que dans les noyaux hépatiques (MARSH et coll., 146).

Le Thymus de Veau renferme de la Di-hydro-folique-réductase qui a été purifiée 100 fois environ ; elle fonctionne soit avec le DPNH, et dans ce cas son activité maxima a lieu à pH=7,6, soit avec le TPNH, mais avec un pH optimum de 5,4. Elle exige la présence de groupes -SH, tout comme son homologue hépatique; elle accepte, comme substrat, aussi bien le di-hydro-folate préparé par une méthode chimique, que le di-hydro-folate formé par une enzyme du Clostridium Sticklandii (NATH et GREENBERG, 159).

Classe III - OXYDASES - L'activité oxydasique a été étudiée dans certains tissus lymphoïdes dont le Thymus, dans le but de rechercher des critères éventuels qui permettraient d'en distinguer les troubles tumoraux et les troubles non-tumoraux ; l'étude a été faite par STEINBERG et coll., (213) qui ont utilisé la méthode micro-manométrique de WARBURG ; il ne semble pas exister de relation entre les activités Oxydasiques et l'une quelconque des nombreuses variables cliniques ou pathologiques enregistrées.

Après fractionnement tissulaire du Thymus de Veau, par la méthode de HOGEBON et SCHNEIDER, l'activité de la Cytochrome-oxydase, exprimée en ΔE_{550} par mg d'azote, et en une minute, se chiffre à 2,76 pour la glande entière, contre 0 pour le noyau (STERN et TIMONEN, 217). Si des Rats ont reçu 800 R de rayons γ , l'homogénat de leur Thymus manifeste une activité cytochrome-oxydasique pratiquement inchangée par rapport à celle des témoins ; il semblerait donc que la baisse respiratoire présentée par des coupes de Thymus de Rats irradiés n'est pas un effet primaire de l'irradiation (THOMSON et coll., 224).

Classe IV - TRANS-ELECTRONASES ANAEROBIES - La répartition de l'activité DPN-cytochrome-C-réductase entre le tissu thymique et ses constituants nucléaire et cytoplasmique, a été chiffrée chez le Veau, après fractionnement tissulaire par deux méthodes : celle de HOGEBON et SCHNEIDER de 1949 et celle de SCHNEIDER et PETERMANN de 1950. Dans le premier cas, l'action enzymatique exprimée en ΔE_{550} par mg d'azote et en une minute, se situe à 3,95 pour le tissu entier et à 0,910 pour le noyau cellulaire ; dans le second cas, on a, par mg de tissu, les chiffres de 0,220 pour le tissu entier, 0,025 pour le noyau et 0,510 (valeur calculée) pour le cytoplasme (STERN et TIMONEN, 217).

Classe V - PEROXYDASES et CATALASES - La bibliographie de cette classe d'enzymes est encore très pauvre. Notons, toutefois, que la présence d'une Peroxydase a été signalée dans le Thymus du Rat (BRACHET et JEENER, 49). Il y a donc là un domaine biochimique pratiquement inexploré et dont la richesse, entièrement inconnue, pourrait se révéler très intéressante.

Nous étudions actuellement la Catalase dans le Thymus lyophilisé de l'Agneau où cette enzyme se révèle très active : en

effet, une suspension tissulaire au 1/50.000 est capable de détruire 12 p. 100 de l'eau oxygénée mise à son contact, en une heure d'incubation (OGIER et coll., 162).

Classe VI - OXYDO-REDUCTASES - Dans les coupes de Thymus congelés, provenant de Lapins, de Rats, de Souris et de Cobayes, mâles et d'âges très différents, on constate que l'activité de la Déshydrogénase-succinique est plus faible chez les sujets vieillissant que chez les animaux en plein développement. L'enzyme apparaît surtout, s'il s'agit de cellules cultivées, dans les cellules réticulaires de l'épithélium ; elle n'est décelable dans les thymocytes que s'il s'agit d'organes prélevés récemment ; quant aux corpuscules de Hassall, ils semblent dépourvus de ce ferment (GYEVAI et KAPA, 98). Son activité a été chiffrée dans différents organes du Rat, avec les valeurs proportionnelles de 18,4 pour le Thymus, 40 pour les surrénales et 87,5 pour le foie, à titre d'exemples (Mc SHAN et coll., 142). Les rayons γ modifient le comportement du ferment, en particulier dans certaines régions du Thymus de la Souris mâle jeune : une dose unique de 400 R, provenant du ^{60}Co est répartie sur tout le corps ; 1 à 3 jours après l'irradiation, la Déshydrogénase-succinique est affaiblie ; du 3ème au 5ème jour, il y a, au contraire, un renforcement du ferment et sa normalisation survient vers le 9ème jour (SMITH et coll., 208). L'activité de la Succinoxydase est encore peu connue dans le Thymus. On sait cependant qu'elle réagit à l'hydrocortisone : chez des Rats ayant reçu trois injections de 5 mg de ce stéroïde, l'activité de l'enzyme augmente si on la rapporte à un même poids d'azote, et sa distribution intra-cellulaire se trouve modifiée (CSEH et MAROSVARI, 58).

Dans les mitochondries thymiques du Rat, a été évaluée l'activité de la Réductase-succino-tétrazolique à l'aide du méthosulfate de phénazine ; l'incubation a lieu dans un appareil de DUBNOFF à 37° C pendant 15 à 20 minutes ; suivant que les thymocytes ont été irradiés avec 800 rads de rayons X, ou n'ont pas subi ce traitement, on voit l'extinction optique passer de 0,262 à 0,181 au temps zéro, et de 0,296 à 0,295 au bout de deux heures ; en l'absence de méthosulfate de phénazine, les résultats sont respectivement 0,195 et 0,213, ou 0,214 et 0,228 ; l'activation due au sel de phénazine n'a lieu qu'avec des préparations fraîches. L'extinction optique augmente avec la dose de rayons X, passant de 0,181 avec la dose zéro, à 0,263 avec 800 rads au bout de quatre heures. L'addition de vitamine K_1 (1 mg) fait passer l'extinction optique de 0,150 à 0,270 ; l'addition de cytochrome c (1 mg) la fait régresser de 0,150 à 0,010 (SCAIFE, 193). L'activité de l'enzyme a été trouvée sensiblement constante chez de nombreux rats, dont l'âge s'échelonnait de 3 à 294 jours. Sa localisation dans des coupes de Thymus ne varie pas non plus avec l'âge, bien qu'elle soit inégale dans le cortex et dans la medulla glandulaire ; à la jonction cortico-médullaire, apparaissent de grandes cellules en zymatiquement plus actives que les autres (KAHRI et coll., 111).

C H A P I T R E I V

L Y A S E S e t S Y N T H A S E S

Cette famille d'enzymes paraît actuellement peu connue dans le Thymus. Citons l'Orotidine-5'-P-décarboxylase qui fait partie d'un complexe dont l'autre activité enzymatique est l'Orotidine-5'-P-pyrophosphorylase citée plus haut. L'Orotidine-5'-P-décarboxylase a été détectée dans le Thymus du Veau et séparée de l'enzyme associée par électrophorèse sur gel d'amidon ; la décarboxylation de l'orotate et de l'orotidine-5'-phosphate est proportionnelle à la concentration de la protéine enzymatique jusqu'à un taux de concentration de 5 fois (KASBEKAR et coll., 112).

L'activité de la Fructose-1-6-diphospho-aldolase commence à être connue dans le Thymus lyophilisé de l'Agneau ; en 2 heures d'incubation, un homogénat glandulaire à 1/200 métabolise une quantité à peine mesurable de son substrat (fructose - diphosphate sodique 0,01 M); mais, avec une dilution de 1/500 agissant pendant 15 heures, le taux d'activité avoisine 13 p. 100; des dilutions plus poussées, de l'ordre de 1/1000, semblent encore actives, mais dans des proportions difficiles à préciser (BALLADE et coll., 14).

Dans le Thymus en régénérescence du Rat, après une dose de 400 R de rayons X, la Thymidylque-synthétase est nulle le 2ème jour après le traitement, mais elle se restaure rapidement : son niveau normal d'activité est retrouvé entre le 4ème et le 5ème jour, puis franchement dépassé dans les quelques heures suivantes (FRENKEL et coll., 84 et SUGINO et coll., 221).

Il reste souhaitable que d'autres travaux soient entrepris pour faire connaître le rôle de ferments de première importance dans un tissu essentiel pour les organismes en pleine croissance.

CHAPITRE V

ISOMERASES et RACEMASES

Nos recherches bibliographiques nous ont fourni très peu d'indications concernant les enzymes de cette famille. Une Phospho-hexose-isomérase s'est révélée dans le Thymus lyophilisé de l'Agneau dont des suspensions diluées jusqu'à 1/5.000 peuvent encore métaboliser, en 30 minutes, un taux d'environ 8 p. 100 de son substrat (le glucose-6-phosphate sodique) (BALLADE et coll., 14). Un cas précis a été étudié chez le Rat en état d'intoxication aiguë par le 9-10-diméthyl-1-2-benzanthracène, hydrocarbure cancérigène ; la Phospho-glucose-isomérase est légèrement activée pendant 1 à 2 jours après le traitement, puis elle est franchement inhibée ; l'inhibition a lieu également dans le foie (DI BELLA et coll., 63).

CHAPITRE VI

ENZYMES et METABOLISMES

I - ACTIVITE RESPIRATOIRE -

Cette manifestation fondamentale de la vie est assez bien connue dans le Thymus. On sait que la Cytochrome-oxydase et la DPN-cytochrome-C-réductase sont mesurables dans le noyau et dans le cytoplasme thymiques du Veau, ainsi que nous l'avons déjà vu plus haut (STERN et TIMONEN, 217). Chez le Rat, le QO_2 s'accroît de la naissance jusqu'à la fin du second mois ; il passe de 9,2 à 13,8 chez le mâle, et de 9,2 à 12,7 chez la femelle ; puis il décroît pour atteindre 7,9 au 150ème jour chez le mâle et chez la femelle (SHIBATA, 199) ; ces chiffres se comparent aux suivants : 2,9 à 4,35 concernant les plaquettes sanguines humaines, ou encore 0,02 pour les hématies humaines et 0,17 pour les hématies nucléées des oiseaux (DASTUGUE et coll., 61). Par la méthode de WARBURG également, on a étudié l'activité respiratoire du Thymus de Cobaye avant et après leur naissance ; les résultats, exprimés en μ l d'oxygène absorbés par 1 mg de tissu sec, en une heure, sont les suivants : si le Thymus provient de foetus âgés de 45 jours, on trouve 9,52 μ l ; à 55 jours, on a 9,71 et à terme 9,67 ; les résultats sont donc assez constants pendant la dernière partie de la vie intra-utérine ; mais aussitôt après la naissance, la Respiration thymique baisse à 7,85 μ l puis 7,35 et même à 5,62 à l'âge de 3 jours ; à un mois, elle remonte à 13,14 pour subir une baisse lente et régulière qui aboutit à 6,17 à l'âge de 3 mois (CHEVREMONT, 52, 53 et 54).

La respiration tissulaire est influencée, évidemment, par certains traitements infligés aux animaux en expérience ; c'est ainsi qu'une injection sous-cutanée de cortisol (2 mg pour 100 g de poids corporel) à des Rats normaux, inhibe la respiration tissulaire du Thymus pendant les 12 premières heures (BELLAMY,

23). Une série de stéroïdes a été injectée à des rats, puis on a recherché les variations de la fixation de l'oxygène par les lymphocytes thymiques ; citons quelques exemples :

Stéroïdes injectés	Concentrations des stéroïdes ($\text{MX}10^{-5}$) requises pour inhiber de 50 % la fixation de O_2 :
Cortisone	192
Hydrocortisone	143
Corticostérone	36
Désoxy-corticostérone	17

L'influence de la pré-incubation des lymphocytes thymiques avec la 17- α -éthyl-19-nortestostérone, sur la respiration subséquente, offre par exemple, les chiffres suivants (BLECHER et WHITE, 36) :

Temps de pré-incubation en minutes	Stéroïdes ($1 \times 10^{-4}\text{M}$)	Fixation de O_2 ($\mu\text{moles par heure}$)
0	-	8,1
30	- +	6,6 7,0
120	- +	6,6 6,8

L'injection intra-péritonéale, à de jeunes cobayes, de 27 mg de 2-4-dinitro- σ -cyclopentyl-phénol par kg d'animal, modifie grandement la Respiration des coupes de Thymus qui en sont issus ; alors que la consommation normale d'oxygène est de 7,45 μl par mg de glande sèche et par heure, on trouve 14,50 μl dans le cas du Thymus prélevé 15 mn après l'injection, puis 18,03 μl au bout de 3 mn, ensuite 9,26 après la 1ère heure et 3,41 après la 3ème heure (CHEVREMONT, 52, 53 et 54). Si l'injection est suivie, dans les 30 minutes, d'une irradiation de 50 ou de 100 R, les Thymus, prélevés dans des délais variant de 4 à 24 heures après le traitement, montrent que " la courbe de glycolyse anaérobie est strictement parallèle à celle de la radiosensibilité ; elles sont l'une et l'autre très différentes de la courbe de la Respiration ". De plus, après injection du produit, l'évolution de la radiosensibilité est analogue à celle de la fermentation anaérobie, mais elle diffère de celle de la Respiration (CHEVREMONT et FIRKET, 55). La radiation γ à la dose de 800 R sur le Rat, ne modifie pas sensiblement l'activité de la Succinique-déshydrogénase, de la Malique-déshydrogénase, de la Cytochrome-oxydase et de l'Adénosine-triphosphatase, ainsi que nous l'avons déjà vu ; dans ces conditions,

on peut penser que la diminution observée dans la Respiration thy-mique n'est pas la conséquence directe des rayons γ (THOMSON et coll., 224).

Une relation unit le poids corporel et le taux respira-toire du Thymus. Pour un Rat mâle Sherman de 100 g, la fixa-tion d'oxygène en 1 heure et par 100 g de glande, est d'environ 80 μ l ; elle n'est plus que de 40 μ l pour un animal pesant environ 400 g ; dans le cas du Rat Long-Evans, les consommations res-pectives sont de 100 et 60 μ l environ. Ces chiffres sont obtenus par une étude du Thymus en milieu glucosé. En milieu non-glu-cosé, la consommation d'oxygène baisse plus vite, quand le poids corporel augmente : elle passe de 70 à 20 μ l quand les Rats Sher-man expérimentés pèsent de 100 à 400 g (BIRMINGHAM et DES-BARATS, 29).

Le Q_{O_2} du Thymus a été étudié également en fonction de la taille, chez des Rats albinos Wistar répartis en une série pondérale très étendue (de 9 à 392 g) ; les résultats, exprimés en l de O_2 absorbés par mg de Thymus sec et par heure, se résument ainsi : 9,04 chez des animaux pesant moins de 50 g ; 8,75 chez des sujets pesant de 50 à 150 g ; puis 7,06 et 6,99 pour des Rats pesant de 150 à 250 g et plus de 250 g, respective-ment ; on ne constate donc pas de différences susceptibles de ren-dre compte de la baisse du métabolisme général avec l'accroisse-ment de la taille (BERTALANFFY et PIROZYNSKI, 26).

En évaluant la réduction du chlorure de 2-3-5 triphényl-tétrazo-nium dans des conditions standard, on a une autre méthode pour mesurer la respiration tissulaire, en particulier celle du Thymus. Si cette glande est prélevée sur des Rats surrénalectomisés, on constate qu'elle possède une plus grande aptitude réductrice, que la glande provenant d'animaux n'ayant subi qu'un simulacre de surré-nalectomie, pendant les deux semaines qui suivent l'opération; au cours des 3^e et 4^e semaines, l'activité respiratoire des opérés redescend au niveau de celle des témoins. L'administration d'ex-trait cortico-surrénal ou d'épinéphrine supprime l'augmentation respiratoire notée chez les animaux surrénalectomisés ; ici encore les effets les plus marqués sont observés pendant la 1^{ère} et la 2^e semaines du traitement hormonal (STRAND et GORDON, 219).

Enfin, qu'un tissu lymphoïde (donc, entre autres, le Thymus) soit le siège de troubles néoplasiques ou de troubles non-néoplasiques, les activités oxydasiques du tissu ne peuvent pas être mises en relation avec l'une quelconque des variables cliniques ou pathologiques étudiées (STEINBERG et coll., 213, dé-jà cités).

La fixation du phosphore, condition essentielle de nom-breuses synthèses, varie avec l'âge des sujets ; chez le Rat, elle diminue approximativement dans le rapport de 5 à 1 entre le 10^e

et le 90^e jour de la vie ; pendant la même période, le turnover du phosphore augmente légèrement du 10^e au 20^e jour, puis redescend aux environs du tiers de sa valeur initiale, au bout de 90 jours (SHIBATA, 199). Dans certaines conditions expérimentales, on a déterminé le taux de production de phosphate labile par les noyaux thymiques ; exprimé en μg de P par mg de P de l'ADN en une minute, il est de 0,31 pour le Thymus du Rat ; à des doses sub-léthales, les rayons X inhibent cette production, mais elle reprend au 3^e jour et atteint son taux normal vers la 100^e heure après l'irradiation (CREASEY et STOCKEN, 56).

Si l'on retire le Thymus du Rat immédiatement après la mort de l'animal, et qu'on en isole les noyaux cellulaires dans un milieu saccharose et chlorure de calcium, l'incubation de cette préparation en atmosphère d'azote appauvrit le noyau en ATP, sans qu'il se produise un enrichissement correspondant en AMP et en ADP ; mais si l'incubation a lieu avec des noyaux provenant de Thymus laissés 15 minutes dans le corps de l'animal après sa mort, la teneur nucléaire en ATP s'élève rapidement à près de 3 fois sa valeur initiale ; cette synthèse de l'ATP est complètement inhibée par la roténone à la dose de 0,02 μm mole par mg de protéine (BETEL et KLOUWEN, 27). Parmi les étapes qui constituent la synthèse nucléaire de l'ATP, il se trouve une Phosphorylation oxydative (BETEL et KLOUWEN, 28). Cette dernière, étudiée dans les noyaux du Thymus de Rat, se montre abolie par le dinitrophénol (10^{-4}M) et par l'oligomycine à la concentration de 0,4 μg par mg de protéines ; l'antimycine A à la dose de 1 μg par ml, et le di-coumarol ($3 \times 10^{-5}\text{M}$) sont inhibiteurs à la fois de la synthèse nucléaire et de la synthèse mitochondriale de l'ATP ; si les noyaux thymiques sont soumis à l'action de la DN-ase pendant 30 minutes, à la température de 37° C, on constate un affaiblissement aussi bien de la respiration que de la phosphorylation nucléaire (Mc EWEN et coll., 140).

On connaît assez bien l'action des rayons X sur la Phosphorylation oxydative intra-thymique ; elle a été étudiée chez le Lapin et le Rat albinos, ainsi que sur le Cobaye, et ne semble pas en relation avec une modification majeure dans les lipides des mitochondries thymiques (SCAIFE et HILL, 194). Une dose de 50 R est suffisante pour l'affaiblir dans les mitochondries une heure après l'irradiation (VAN BEKKUM, 19). Si l'on attend quatre heures pour faire l'examen, on trouve les résultats suivants : la fixation de phosphate, exprimée en μmoles par mg de N_2 , tombe de 14,8, chez les témoins à 5,8 chez les Rats traités par 50 R ; après une dose de 100 R, on trouve 15,7 contre 18 ; après 300 R, on a 9,8 contre 21,9 et après 500 R, on arrive à 6,9 contre 17. Avec des doses supérieures à 300 R, les différences obtenues par rapport au traitement avec 200 R, sont difficiles à apprécier en raison de l'altération nucléaire qui varie peu, comparé aux modifications individuelles ; d'un autre côté, on peut envisager 50 R

comme étant la dose minima dont les effets soient significatifs dans le Thymus (VAN BEKKUM et VOS, 20 et 22). Cette inhibition, plus ou moins accentuée suivant les doses de rayons X appliquées, ne se produit pas si l'animal a été préalablement traité par la cystéine (MAASS et ADLER, 136).

2 - METABOLISME GLUCIDIQUE -

A - Catabolisme des glucides.

Le cycle d'EMBDEN-MEYERHOFF fait appel à une quinzaine d'enzymes parmi lesquels on a trouvé, dans le Thymus : une Phospho-glucomutase, une Hexokinase (ORD et STOCKEN, 165 et 166), et la Phospho-glucose-isomérase (DI BELLA et coll., 63), alors que les autres enzymes ne semblent pas avoir été encore détectées.

Le Shunt des Hexoses-monophosphates comporte, entre autres actions celle de la Glucose-6-phosphate-déshydrogénase que nous avons déjà mentionnée (STERN et MIRSKY, 216 et MIRSKY, 152). De plus, dans le but d'apprécier le rôle de ce shunt on a fait incuber des cellules de Thymus et d'autres tissus lymphatiques avec du glucose préalablement marqué. Le fluorure et le pyruvate renforcent l'oxydation du glucose-1- ^{14}C en $^{14}\text{CO}_2$; ils inhibent l'oxydation du glucose-6- ^{14}C dans les tissus autres que les tumeurs d'EHRlich et GARDNER, ainsi que l'oxydation du glucose-2- ^{14}C par le Thymus (KIT, 118).

Quant au cycle de l'Acide Citrique, il fait intervenir, en particulier : les Déshydrogénases isocitrique, malique et succinique, identifiées dans le Thymus et que l'on considère comme indicatrices du cycle de Krebs (FENNEL et PEARSE, 75) et citées plus haut. Une chaîne d'enzymes, relevant du même cycle, voit son activité évaluée en mesurant la coloration d'acide fluorocitrique chez des animaux ayant reçu des injections de fluoroacétate. A des doses léthales (800 R), les rayons X inhibent nettement en 3 heures, l'accumulation d'acide fluoro-citrique par le Thymus du Rat ; à doses plus faibles (100 R), l'action a lieu dans le même sens, mais elle est réversible (DUBOIS et coll., 67 et PIRIE, 177).

B - ANABOLISME DES GLUCIDES -

Le Thymus du Rat albinos mâle adulte est capable d'incorporer le ^{32}P dans les acides adénosine di et tri-phosphoriques ; cette incorporation peut se mesurer après injection intra-veineuse de phosphate inorganique préalablement rendu radio-actif, et on peut constater qu'elle est sensible aux rayons X. En effet, 4 heures après l'application d'une dose de 700 R sur tout le corps du Rat, on enregistre des modifications qui proviennent peut-être d'un affaiblissement de la phosphorylation dans les tissus irradiés (Van BEKKUM, 21).

3 - METABOLISME LIPIDIQUE -

Il est certainement lui aussi loin d'être négligeable, étant donné les enzymes qui s'y rattachent et que nous avons déjà eu l'occasion de citer dans les précédents paragraphes de cette revue parmi les Lipases et Hydrolases diverses : une Cholinestérase vraie et une Pseudo-cholinestérase, et de l'Acétyl-cholinestérase ; ces ferments co-existent d'ailleurs dans le même Thymus, mais dans des proportions relatives qui varient avec l'âge du sujet ; une Arylsulfatase dont l'étude déjà précise, se poursuit encore ; une β -glucuronidase, à la fois nucléaire et cytoplasmique, et dont on connaît le comportement dans plusieurs conditions physiologiques ou expérimentales ; des Phosphatases acide, neutre et alcaline, remarquablement étudiées dans différentes espèces animales, avec des conditions d'observation nombreuses et variées.

4 - METABOLISME PROTIDIQUE -

Il semble plus intense que les autres, dans le Thymus, ou, en tout cas, il est beaucoup mieux connu, ainsi qu'en témoigne la bibliographie actuelle. Celle-ci nous fournit les données suivantes :

A - CATABOLISME des PROTIDES.

Il est réalisé par de nombreuses enzymes dont plusieurs ont été présentées plus haut et que nous ne faisons que rappeler ici : l'Histaminase, la Glutathion-réductase, les Transaminases glutamique-aspartique et glutamique-pyruvique, la Leucine-amino-peptidase, des Dipeptidases et Tripeptidases, enfin la Trypsine et la Chymo-trypsine.

B - ANABOLISME des PROTIDES.

Il assure l'édification de l'armature cellulaire et comprend en premier lieu, la Synthèse Protéinique : celle-ci fait appel à l'intervention de nombreuses enzymes, dont l'étude est en cours. En milieu saccharose, des noyaux de Thymus de Veau incorporent activement des acides aminés à carbone marqué (ALLFREY et coll., 7) ; parmi ceux-ci, il y a l'alanine, dont l'incorporation se trouve vivement entravée si l'on extrait des noyaux, les nucléotides et le potassium, à l'aide d'acétate (OSAWA et coll., 168), ou si l'on ajoute au milieu expérimental certains poisons respiratoires ou de la DN-ase (LOFTFIELD, 133 et ALLFREY et coll., 8). Des noyaux thymiques, isolés à partir du Veau, incorporent la phényl-alanine ; l'addition de DN-ase, à raison de 500 μ g par ml de suspension, inhibe cette incorporation à concurrence de 50 à 70 p. 100 ; l'adjonction d'ADN de Thymus de Veau (5 mg/ml) restaure cette possibilité d'incorporation. Celle-ci est, d'autre part, inhibée à 50 ou 70 p. 100 par les rayons X (950 R) ou ultra-violets (2200 ergs/mm²) (FICQ et ERRERA, 76).

Des noyaux thymiques provenant du Veau, incorporent la glycine marquée, cette incorporation étant vivement diminuée par l'addition de DN-ase ou de certains poisons respiratoires (LOFTFIELD, 133 et ALLFREY et coll., 8).

Des noyaux préparés à partir du Thymus du Veau et du Lapin, en milieu saccharose et chlorure de calcium, incorporent la leucine marquée ; cette activité varie du simple à plus du double, suivant que l'essai a lieu en présence d'ions Na^+ ou d'ions K^+ , à un pH de 6,7 ou de 7,3 ; en outre, le temps qui s'écoule entre la décapitation de l'animal et l'extraction du Thymus, affaiblit cette faculté d'incorporation d'acides-amino dans des proportions d'environ 50 p. 100 en 15 minutes (HERRANEN et BRUNKHORST, 103). L'immersion de noyaux thymiques dans des solutions de dextran montre qu'il y a d'abord augmentation de l'incorporation en même temps qu'augmentation de la concentration du dextran de 10 à environ 30 p. 100, puis affaiblissement brusque de l'incorporation si la concentration du dextran continue à croître jusqu'à 36 p. 100 (FISHER et CLINE, 78). Une dose de 650 R de rayons X sur tout le corps du Lapin modifie la capacité de fixation de la leucine marquée par les noyaux et les microsomes du Thymus ; par exemple, 4 heures après le traitement, il y a 35 p. 100 d'inhibition dans les noyaux et 40 p. 100 dans les microsomes ; 18 heures après le traitement, les pourcentages respectifs sont de 90 et 85 ; il y aurait modification de la structure et des enzymes nucléaires par l'irradiation administrée sur tout le corps (HERRANEN, 102).

La synthèse protéinique est arrêtée par l'extraction de l'ADN du noyau, et elle reprend si l'ADN est restauré ; l'ADN peut d'ailleurs, sans inconvénient pour la réaction, être partiellement dégradé ou provenir de tissus différents ; il peut enfin être remplacé par l'ARN. Mais l'édification de la protéine nucléaire ne supporte pas la présence du benzimidazole-riboside ajouté au début de l'incubation. Au contraire, ajouté 30 minutes plus tard, cet effecteur n'est plus un obstacle (ALLFREY et coll., 8). L'addition d'ATP inhibe la synthèse protéinique dans le noyau thymique ; il y aurait une altération de la structure nucléaire et un affaiblissement de la teneur en groupes thiols intra-nucléaires ; sont inhibiteurs également, les réactifs qui oxydent ces groupes thiols ou qui se combinent avec eux ; dès lors, on conçoit que les agents réducteurs activent la synthèse protéinique. L'action des rayons X est étudiée grâce à la valine marquée dont on suit l'incorporation par auto-radiographie ; une irradiation de 1000 R, répartie sur tout le corps de Rats normaux, stimule, dans les 30 premières minutes, la synthèse protéinique ; en effet, le nombre de grains par noyau thymique passe de 1,34 à 1,80 ; s'il s'agit de noyaux provenant de Rats surrénalectomisés, le nombre de grains diminuerait de 2,07 à 1,55, dans les 30 premières minutes (SMIT et STOCKEN, 203). Le métabolisme de l'acide nucléique

qui est vivement influencé dans le Thymus par les rayons X, l'est nettement moins dans le foie. Après irradiation, il y a d'abord un amoindrissement de la synthèse de l'acide nucléique, puis intervient une reprise de cette synthèse. Si l'ensemble du corps a reçu une dose supra-léthale de rayons X, la seconde phase ne se produit pas ; des doses sub-léthales de 200 à 300 R sont suffisantes pour troubler le métabolisme nucléique dans le Thymus, ainsi d'ailleurs que dans la rate (YAMAMOTO, 235). On connaît, également, l'action de certains effecteurs chimiques sur cette synthèse: c'est ainsi que des concentrations croissantes de chloramphénicol, de sulfoxyde de méthionine et d'allyl-glycine inhibent l'incorporation d'acides aminés dans la protéine nucléaire (BREITMAN et WEBSTER, 50).

La synthèse protéinique se trouve inhibée par les réactifs à sulfhydryl et par le glutathion oxydé ; des Enzymes à sulfhydryl interviendraient donc dans la synthèse des protéines nucléaires (SMIT et STOCKEN, 202).

L'action combinée de ces effecteurs physiques et chimiques s'établit actuellement ainsi : des Souris reçoivent, en injections intra-péritonéales, 0,15 mg de chlorhydrate de -mercaptoéthylamine par gramme de poids corporel, dans un délai de 10 à 30 minutes avant ou après une irradiation de rayons X (300 R) ; d'autres Souris reçoivent 0,25 mg par gramme, de bromhydrate de S-(β -aminoéthyl)-isothiuronium, avant une dose de 680 R de rayons X ; on remarque, entre autres constatations, que le métabolisme de l'acide nucléique est appréciablement affaibli dans le Thymus, un jour après le traitement (YAMAMOTO, 236).

La synthèse de l'acide ribonucléique intéresse, dans le Thymus, l'activité de systèmes enzymatiques dont le nombre et la nature sont encore imprécis. Voici le point récent de cette question si complexe :

L'incorporation de l'ortho-phosphate dans l'acide ribonucléique, peut être suivie par la marquage du phosphore. De cette manière, on a mis en évidence dans le Thymus du Veau un système enzymatique qui catalyse cette incorporation ; un homogénat de cette glande, centrifugé à 32.000 g, fournit un surnageant qui contient ce système catalytique ; sa température optima est de 43° C et son pH optimum se situe à 7 (GOLEWSKY, 90). L'action de l'ion Na^+ est nécessaire ; par contre les ions K^+ , NH_4^+ , Li^+ , sont inhibiteurs ; la glycine n'est plus incorporée si l'on est en présence de purine ou de 6-mercaptapurine, ou si l'on ajoute de la Désoxy-ribonucléase. L'AMP ou l'adénine peuvent être incorporés dans l'ARN par des préparations de noyaux thymiques rompus par les ultrasons. Les enzymes responsables de ces diverses incorporations, sont en cours d'étude (BREITMAN et WEBSTER, 50). La synthèse de l'ARN dans les noyaux thymiques peut être

mesurée par le taux d'incorporation de la purine radio-active et des nucléosides pyrimidiques ; l'incorporation de l'acide orotique marqué dans l'ARN est également susceptible d'être suivie expérimentalement et, suivant que l'on travaille avec une préparation cellulaire ou avec une suspension nucléaire, on trouve qu'en atmosphère " $\text{CO} + \text{O}_2$ " il y a une inhibition d'un tiers, ou il n'y a pas d'inhibition de la synthèse protéinique. Il semblerait que la quasi-totalité de la synthèse de l'ARN s'effectue dans le noyau (Mc EWEN et coll., 141).

L'incorporation du monophosphate de cytosine provenant du triphosphate de cytidine, dans des polymères de l'acide ribonucléique, peut s'effectuer sous la dépendance d'une préparation enzymatique provenant du Thymus de Veau et purifiée 100 fois. L'activité ne se manifeste qu'en présence d'ions Mg^{++} et elle exige l'ARN thymique, à l'exclusion des ARN provenant d'autres organes ; l'action du ferment ne se porte ni sur le triphosphate d'adénosine, ni sur le triphosphate de guanosine ; quant au triphosphate d'uridine, il ne convient, très faiblement d'ailleurs, qu'en raison d'une probable activité contaminante (HURWITZ et coll., 108) ; mais un accroissement de 30 ou 40 fois, de l'incorporation du triphosphate de cytidine, est réalisé par une préparation enzymatique provenant de noyaux de Thymus si on lui ajoute les triphosphates d'adénosine, de guanidine et d'uridine ; inversement, c'est une diminution de cette incorporation, qui se produit si l'on remplace les triphosphates par les diphosphates correspondants, et c'est une inhibition que déclenche un pré-traitement par la DN-ase ou par la RN-ase. Par le marquage de plusieurs triphosphates de nucléoside, on constate que la composition de l'ARN synthétisé est sans relation avec celle de l'ADN thymique, mais qu'elle se rapproche de celle de l'ARN endogène de la préparation particulière issue de la centrifugation des milieux d'incubation (BISWAS et ABRAMS, 32 et 33).

La synthèse de l'Acide Désoxy-ribonucléique est un phénomène extrêmement complexe faisant appel à l'incorporation de constituants déjà eux-mêmes plus ou moins élaborés. Pour commencer par l'un des cas les plus simples, citons la fixation, dans l'ADN, du phosphore marqué ; si cette opération comporte, en outre, l'intervention des rayons γ à des doses de 1800 et 2000 R, on enregistre des inhibitions de 15 à 21 p. 100 de la fixation du P_{32} , tout ceci in vitro (ORD et STOCKEN, 164). L'inhibition ainsi provoquée par les rayons γ et par les rayons X conduit à penser qu'elle est la conséquence de la détérioration et de la mort des cellules (KELLY, 115). Chez des Rats ayant reçu par la voie intra-musculaire du phosphore radio-actif, et ayant été irradiés in vivo par 1000 R de rayons X, on voit l'incorporation du phosphore tomber dans la proportion de 4,5 à 1,8 par rapport aux témoins, ou de 3,2 à 1,1 suivant la nature de l'acide injecté après le phosphore (RICHMOND et coll., 183).

Toujours au cours de l'édification de l'Acide Désoxy-ribonucléique, a lieu la synthèse de l'acide thymidylique et de la thymidine, catalysée par des extraits de Thymus de Veau desséché dans l'acétone, ainsi d'ailleurs que par des extraits de glande fraîche. Le magnésium augmente la formation de thymidine, aux dépens de la formation de l'acide thymidylique, à partir de l'acide désoxy-uridylique ; l'ATP, qui a l'effet inverse, n'est pas nécessaire à cette synthèse, mais il l'est si le point de départ est la désoxy-uridine. Le système enzymatique produit également des quantités négligeables de di et de tri-phosphates de thymidine (WHITTAKER et BLAKLEY, 234). Il y a une déphosphorylation des acides désoxy-uridylique et thymidylique par une préparation enzymatique brute provenant du Thymus de Rats ; cette déphosphorylation est entravée par l'adénosine-triphosphate mais elle est stimulée par l'ion Mg^{++} (HUMPHREYS et GREENBERG, 107). Le surnageant du Thymus de Lapin catalyse l'incorporation de la sérine- ^{14}C dans la thymidine en présence de l'uracile-désoxyriboside, ce qui n'a plus lieu après ébullition de la préparation glandulaire ; son traitement par le chlorure-1-Dowex, à la dose de 100 mg par ml de surnageant inhibe la synthèse de la thymidine, mais on peut ré-activer la suspension biologique par addition de glutamate de tétra-hydro-ptéroyl ($10^{-3}M$), de triphosphate d'adénosine ($10^{-3}M$) et de DPNH (BLAKLEY, 34). Une Thymidylate synthétase a d'ailleurs été purifiée à partir du Thymus de Veau ; ce doit être une protéine de poids moléculaire relativement faible ; par électrophorèse, on constate des mobilités électriques différentes qui doivent se rapporter au moins à 4 composants, qui sont peut-être l'indice d'une protéine enzymatique complexe, ou d'une association avec des protéines étrangères. Le pH optimum du ferment est de 7,6 (GREENBERG et coll., 96).

La thymidine est incorporée dans l'acide désoxy-ribonucléique par le Thymus ; on a suivi ce processus, chez le Lapin, en marquant un atome de carbone et en notant la radio-activité de la fraction acido-soluble du tissu mis à incuber avec cette thymidine- ^{14}C ; la glande thymique est, avec la moëlle osseuse, l'organe où cette incorporation est la plus active (FRIEDKIN et WOOD, 86). Chez le rat albinos mâle, il y a également des différences d'activité entre les tissus accomplissant ce stade de la synthèse de l'ADN ; avec la méthode expérimentale retenue, on trouve que le Thymus est 5 ou 10 fois plus actif que la rate, et 15 ou 30 fois plus actif que le foie normal (BOLLUM et POTTER, 46). L'incorporation des acides aminés dans l'ADN est généralement influencée par les rayons X, qui tiennent en outre sous leur dépendance divers changements dans la population cellulaire (HOWARD, 106). Ainsi, les rayons X administrés au Rat, à des doses allant jusqu'à 800 R, diminuent rapidement l'incorporation de la thymidine marquée dans l'ADN du Thymus ; mais si l'irradiation utilise des doses plus faibles, descendant jusqu'à 50 R,

l'action inhibitrice s'atténue; on ne remarque pas de tendance à un retour à la normale dans le délai de 24 heures (NYGAARD et POTTER, 161).

La fixation de l'adénine marquée dans l'ADN des noyaux du Thymus de Veau n'est pratiquement pas modifiée par le traitement de la suspension nucléaire par les rayons X utilisés à des doses de 50 à 900 R (LOGAN et coll., 134).

L'incorporation de triphosphate de désoxy-cytidine à phosphore marqué dans l'acide désoxy-ribonucléique en cours de synthèse, est effectuée par une préparation enzymatique provenant d'une poudre de Thymus de Veau et partiellement purifiée; cette incorporation se chiffre entre 200 et 500 moles de triphosphate incorporés pour un mg de protéine, en 30 minutes (HARFORD et KORNBERG, 100). Les noyaux du Tymus du Veau possède une fraction enzymatique capable d'incorporer, dans certaines limites, des désoxy-ribonucléotides dans les positions terminales de l'ADN; des ribonucléotides peuvent également être incorporés par cette enzyme qui serait distincte de l'ADN-polymérase (KRAKOW et coll., 122). Enfin, l'orthophosphate, la glycine, l'adénine la guanine, par exemple, sont activement incorporés dans l'ADN, par les noyaux isolés du Thymus de Veau; pour l'ortho-phosphate, il faut des ions Na^+ , mais les ions K^+ , NH_4^+ , Li^+ , par exemple, s'opposent à cette incorporation; celle de la glycine n'est pratiquement pas amoindrie par la purine et par la 6-mercapto-purine, et elle ne dépend pas de la présence éventuelle de Ribonucléase. Les enzymes responsables de ces incorporations, sont en cours d'étude (BREITMAN et WEBSTER, 50).

L'incorporation du triphosphate de thymidine dans l'ADN, peut être utilisée pour déterminer l'activité de l'ADN-polymérase sous certaines conditions, dans des extraits de Thymus de rats mâles; le pourcentage de l'enzyme total extrait du culot initialement préparé avec des ions Ca^{++} (2 mM) est plus du double de celui provenant de culot initialement préparé sans Ca^{++} . Dans les cellules intactes l'ADN-polymérase peut être localisée dans les noyaux, en une possible association avec une désoxyribo-nucléoprotéine (MAIN et COLE, 143).

A partir du Thymus de Veau, a été purifiée une Polymérase qui agit en sens inverse de la DN-ase : elle intervient dans la synthèse de l'acide désoxy-ribonucléique en incorporant la ^3H -thymidine dans l'ADN après l'action d'une Kinase en présence d'ATP (BOLLUM, 37). La polymérase thymique se trouve dans la fraction soluble de la glande, tandis que les fractions nucléaire ou particulaire n'ont qu'une activité spécifique apparente beaucoup plus faible (BOLLUM, 38). Des enzymes polymérisant les désoxy-poly-nucléotides, il en existe dans maints tissus,

mais ils paraissent différer entre eux, ainsi que le montre leur degré relatif d'activité dans différents organes de mammifères :

Thymus	100	foie	7
rate	22	pancréas	1

(BOLLUM, 39). La Polymérase du Thymus de Veau est optima à pH = 7,2 et elle possède secondairement une activité Nucléasique dont le maximum se situe à des pH de l'ordre de 8 à 9. La synthèse de l'ADN par la Polymérase est inhibée par le pyrophosphate : s'il s'agit d'un pyrophosphate radio-actif, il est incorporé dans le triphosphate de désoxy-ribonucléoside (BOLLUM, 43). L'activité du ferment exige la présence d'ion Mg^{++} (BOLLUM, 38) et elle varie avec la composition du milieu réactionnel. Les triphosphates désoxy-ribonucléoside d'anédine, de guanine, de cytosine et de thymine sont indispensables à la capacité de synthèse de la préparation enzymatique purifiée (BOLLUM, 43). D'autre part, au bout de 20 minutes d'incubation à 37°5, les nombres de $\mu\mu$ moles de 3H - triphosphate de thymidine incorporées sont les suivants :

dans le milieu "complet".....	100
sans ADN.....	0
- Mg^{++}	0
- désoxy-ATP.....	9
- - -GPT.....	13
- - -CTP.....	28

(BOLLUM, 38, 39, et 41).

L'ADN peut être inactif comme source, dans certaines préparations, mais celles-ci peuvent être activées par un chauffage de 10 Minutes à 99° C (BOLLUM, 40). L'ADN naturel n'est pas utilisable comme source, mais il peut servir de point de départ à l'élaboration du désoxy-polynucléotide utilisable (BOLLUM, 42). Des substrats nucléotidiques contenant du ^{32}P permettent d'étudier le rôle de "priming" joué, dans la synthèse des poly-désoxy-ribo-nucléotides, par les oligo-désoxy-ribo-nucléotides (BOLLUM, 44) dont le groupe 3'-hydroxyl peut servir de noyau à l'édification enzymatique (BOLLUM, 45).

Rappelons enfin ici, plusieurs enzymes décrites plus haut, c'est-à-dire les Adénosine-mono et triphosphatases, les Adényl-3 et 5-phosphatases, la Ribonucléase et la Désoxy-ribonucléase particulièrement bien explorée. Signalons, pour terminer, la présence dans le Thymus de l'Agneau, d'une Créatine-phosphokinase dont nous poursuivons actuellement l'étude expérimentale.

Des "Enzymes pH = 5", de nature complexe et encore imparfaitement connues, sont détectées dans les noyaux du Thymus, ainsi d'ailleurs que dans la glande entière, en particulier chez le Veau. Ce complexe enzymatique catalyse un échange pyrophosphate-ATP, que l'on peut suivre à l'aide du ^{32}P du pyrophos-

phate; un certain nombre d'acide L-aminés stimulent cet échange, alors que les acides D-aminés sont inactifs (HOPKINS, 104; HOPKINS et coll., 105; WANG, 227 et 228). La leucine - ^{14}C est incorporée dans les protéines de certaines particules nucléaires isolées du Thymus, mais il faut que soient présents non seulement les "Enzymes pH=5" nucléaires, mais aussi, entre autres facteurs, l'ATP et le triphosphate de guanosine (FRENS-TER et coll., 85).

Des Enzymes activateurs d'acides aminés ont été détectées dans les noyaux thymiques du Veau qui avaient été préparés en milieu saccharose ou en milieu non-aqueux. En présence de chloramphénicol, les amino-acides se trouvent activés et peuvent être liés à l'acide ribonucléique, mais ils ne sont pas incorporés à la protéine par les noyaux (ALLFREY, 5; STULBERG et NOVELLI, 220; HOPKINS, 104 et 105). Si l'on irradie des suspensions nucléaires et d'enzymes activatrices avec des rayons X (165 R par minute), on constate que la formation d'amino-acyl-hydroxamate est très vive et qu'elle augmente avec le temps d'incubation; on a, par exemple 1,1 $\mu\text{mole/mg}$ de protéine soluble en 30 minutes, et 2,5 μmoles en 120 minutes. D'autre part, la suppression de l'ATP dans le milieu d'incubation, fait tomber la formation d'a-a-h de 1,97 à 1,07 $\mu\text{mole/heure}$; l'addition de Pyrophosphatase de levure la fait monter à 2,02 (SMIT et STOCKEN, 201).

L'activité du Co-enzyme A dans le Thymus, semble avoir suscité peu de publications. On sait néanmoins qu'il est sensible aux rayons X; 600 à 900 R, appliqués à des Rats, le font régresser dans cette glande, ainsi que dans le foie, mais le renforcent dans les capsules surrénales (SEREBROVSKAYA, 197).

La conversion de l'acide xanthylique en acide guanylique est catalysée par une enzyme qui a été purifiée à partir du Thymus de Veau; il est indispensable d'ajouter, au milieu réactionnel, des ions Mg^{++} , de l'ATP, de la L-glutamine et un mercaptan (cystéine, co-enzyme A, glutathion, β -mercapto-éthanol); l'ATP ne peut pas être remplacé par les tri-phosphates d'uridine, de cytidine ou de xanthidine; les ions Mn^{++} ne permettraient que la moitié de l'activité observée avec le magnésium; avec une préparation enzymatique brute, on peut mettre du glutamate à la place de glutamine, mais ceci est impossible avec un ferment purifié (MEISTER, 150).

La synthèse du diphosphopyridine nucléotide est active dans le Thymus du Rat; cet animal reçoit d'abord une irradiation de 1500 R, puis, dans un délai ne dépassant pas 60 minutes, une injection intrapéritonéale de nicotinamide à la dose de 0,50 g par kg de poids sec; la synthèse in vivo du DPN ne se montre pas supprimée par l'irradiation (MYERS, 155).

Les thymocytes du Rat possèdent une NAD-ase répartie dans les noyaux cellulaires, dans les mitochondries et dans le surnageant, car chacune de ces 3 fractions cellulaires se révèle capable de détruire le Nicotinamide-Adénine-Dinucléotide par incubation de 30 minutes à 37°; une dose de 800 rads affaiblit cette activité dans les noyaux et dans les mitochondries, mais elle la renforce dans le surnageant; l'addition de nicotinamide 0,01 M au milieu d'incubation, inhibe la NAD-ase en 30 minutes (SCAIFE, 192).

La méthylation de la désoxy-uridine fait appel à un système enzymatique que l'on a trouvé dans le Thymus du Rat, du Porc, du Boeuf et du Mouton; son activité peut s'exprimer en μ moles de TTC (" Total-thymine containing compounds ") formées par un mg de protéine $\times 10^4$; on trouve, chez le Rat immature : 95,1 pour le Thymus contre 185 pour la glande sub-maxillaire et 6,9 pour le foie; dans le Thymus d'animaux adultes, on obtient 24,4 chez le Rat contre 34,2 chez le Porc et 2,8 chez le Mouton; les Thymus d'adultes semblent donc moins actifs que ceux des animaux jeunes (PHEAR et GREENBERG, 175).

C O N C L U S I O N

Le nombre d'activités enzymatiques actuellement reconnues dans le Thymus dépasse largement la centaine; chacune d'elles a été identifiée et souvent appréciée quantitativement par l'action d'un homogénat d'organe sur un substrat approprié. Elles sont parfois localisées avec précision soit dans la zone médullaire, soit dans la zone corticale. Les sites histologiques ont été étudiés par coloration, ce qui permet de les déterminer, soit au niveau du cytoplasme pour l'ATP-ase et la Glutathion-réductase par exemple, soit dans le noyau pour l'Adénosine-mono-phosphatase et la β -glucuronidase entre autres. Le stade de la simple détection de la présence dans la glande est donc largement dépassé.

Le comportement de ces enzymes se révèle de mieux en mieux à la faveur de nombreux essais physico-chimiques : réponse des activités enzymatiques *in vitro* à divers effecteurs minéraux : les ions Mg^{++} renforcent la Pyrophosphatase, mais peuvent inhiber la DN-ase; les ions Ca^{++} activent l'ATP-ase; réponse aux effecteurs organiques tels que la cystéine qui déprime la Lymphopeptidase. Etude des activités enzymatiques *in vivo* dans de nombreux cas : activation plus ou moins accentuée par les rayons X, suivant la dose, en ce qui concerne la β -glucuronidase et la Cathepsine par exemple; affaiblissement puis renforcement de la Succino-déshydrogénase par une dose de 400 R de rayons γ ; ces irradiations, on l'a vu dans les pages qui précèdent, peuvent être appliquées en une ou plusieurs fois, à des doses très variées, et soit au niveau du Thymus lui-même, soit sur tout le corps; action de facteurs hormonaux comme l'hydrocortisone dont l'injection à des Rats est susceptible d'exalter la DN-ase; réponse enfin à certaines conditions extérieures : par exemple, le froid active la Phosphatase alcaline si celle-ci est étudiée avec le fructose-diphosphate ou le glycérophosphate, comme substrats; mais cette activité enzymatique ne réagit pas au froid, si l'expérience a lieu en présence d'acide nucléique de la levure.

L'activité respiratoire du tissu thymique met en jeu des enzymes ou des systèmes enzymatiques complexes; rappelons seulement la Cytochrome-oxydase et la DPN-cytochrome-c-réductase; nous avons vu, en outre, que les rayons γ , à la dose de 800 R, n'influent pas sensiblement sur les activités de la Succino-déshydrogénase, de la Malico-déshydrogénase et de l'Adénosine-triphosphatase.

Les principaux catabolismes (glucidique, lipidique et protidique) font chacun intervenir une chaîne d'enzymes dont les maillons se révèlent progressivement dans le Thymus; c'est le cas notamment avec la Phospho-glucomutase, l'Hexokinase et la Phospho-glucose-isomérase du cycle d'EMBDEN-MEYERHOFF, et avec les Déshydrogénases isocitrique, malique et succinique du cycle de KREBS; de même avec la Glucose-6-phosphate-déshydrogénase qui intervient entre autre dans le shunt des hexoses-monophosphates.

En ce qui concerne l'anabolisme, il existe déjà une importante série de travaux clarifiant deux synthèses fondamentales: l'une est celle de l'acide ribonucléique qui a été mis en évidence par l'incorporation de groupements chimiques tels que l'ortho-phosphate, et de produits plus élaborés comme le monophosphate de cytosine; l'autre, celle de l'acide désoxyribonucléique, présuppose la synthèse de l'acide thymidylique et de la thymidine, ainsi que l'incorporation du triphosphate de désoxy-cytidine, ces opérations, comme d'ailleurs d'autres moins bien connues, qui concourent toutes à la synthèse de l'ARN et de l'ADN, sont conditionnées par la présence de certains effecteurs physico-chimiques, parmi lesquels citons: la température et le pH (dont les valeurs optima sont respectivement de 43°C et de 7 unités pH pour l'incorporation enzymatique de l'ortho-phosphate dans l'acide ribonucléique, par exemple); certains ions (Mg^{++} pour l'incorporation du monophosphate de cytosine dans des polymères de l'acide ribonucléique); ou enfin des produits organiques qui peuvent jouer un rôle d'inhibiteur (par exemple, la purine et la 6-mercaptopurine qui s'opposent à l'incorporation de la glycine dans l'ARN) ou d'activateur (rappelons seulement que le triphosphate d'adénosine augmente considérablement la quantité de triphosphate de cytidine incorporée dans des polymères de l'ARN).

Par la poursuite et l'approfondissement de ces recherches, il est permis d'espérer que les modifications des activités enzymatiques du Thymus, soit en tant qu'effets, soit dans certains cas en tant que causes, permettront, comme dans beaucoup d'autres organes, d'apporter une contribution d'intérêt non équivoque en physio-pathologie humaine.

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES EXPERIMENTALES

I N T R O D U C T I O N

Le thymus est encore dans une large mesure, ainsi que nous y avons fait allusion en débutant, un organe mystérieux. En effet la particularité qu'il présente, de s'involver après le développement plus ou moins complet de l'organisme, lui confère un aspect énigmatique que de nombreuses recherches n'ont que très partiellement élucidé. Des animaux ayant subi la thymectomie dès leur naissance, n'ont pas montré ultérieurement d'anomalies caractéristiques, alors que d'autres sujets restaient sous-développés ou même décédaient dans un état cachectique très apparent.

Disons seulement que, de nos jours, on est arrivé à lui attribuer un rôle de glande endocrine agissant par l'intermédiaire d'un certain nombre d'hormones incomplètement connues; en outre, son intervention est très étudiée en ce qui concerne la génèse du pouvoir immunologique de l'organisme, où il tiendrait une place de premier plan. En présence de fonctions aussi fondamentales et aussi diverses entre elles, on est amené à supposer que le thymus possède un équipement enzymatique très riche. Effectivement, de nombreux travaux ont été publiés, dont nous avons présenté un aperçu volontairement succinct (26), et qui fournissait déjà des précisions sur plus de cent enzymes ou systèmes enzymatiques dans cet organe.

Toutefois, cette investigation présente un caractère en quelque sorte statique. Or, la croissance d'un organisme en général, et de chaque tissu en particulier, comprend à la fois une augmentation quantitative de la matière vivante, et certaines modifications qualitatives plus ou moins accentuées de ses protéines constitutives. Parmi ces dernières se rangent les enzymes, dont plusieurs auteurs s'attachent aujourd'hui à repérer le moment d'apparition et à découvrir leur évolution suivant l'âge des animaux. Ainsi, pour citer quelques exemples :

- l'activité des aspartate-amino-transférases a été étudiée dans les neurones des ganglions spinaux de rats en cours de croissance (35);

chez les sujets âgés de 4 jours, l'activité se trouve dans le cytoplasme des cellules ganglionnaires et dans la membrane nucléaire; à l'âge de 10 jours, une faible activité se décèle dans quelques noyaux; postérieurement, la réaction est plus intense dans le cytoplasme et dans le noyau; à 3 semaines, il y a égalité d'activité dans le cytoplasme et dans le noyau; enfin, l'adulte présente des réactions très fortement positives dans l'ensemble de la cellule.

- les activités lactico et malico déshydrogénasiques, ainsi que celles des transaminases glutamique-oxalacétique et glutamique-pyruvique ont été chiffrées dans le cerveau et dans le foie de la souris au cours de la croissance (7). L'activité de la L.D.H. dans le cerveau, par exemple, est multipliée par un facteur d'environ 5 entre le 5ème et le 39ème jour de la vie, avec plusieurs clochers intermédiaires; celle de la déshydrogénase malique dans le foie diminue de plus de 8 fois entre le 5ème et le 6ème jour, puis elle augmente de plus de 7 fois au 60ème jour avec, là encore, plusieurs sommets intermédiaires.

- de même encore, dans le foie du jeune rat, la phosphorylase augmente de 22p.100 dans les 24 premières heures de la vie autonome, la glucose-6-phosphatase triple, tandis que la lactico-déshydrogénase n'augmente que de 25 à 30p.100 environ (32 bis). Chez le nourrisson, la lipase s'accroît progressivement dès les premiers jours et atteint son taux définitif en un mois environ, alors que la glutamique-oxalacétique-transaminase plasmatique, intense chez le nouveau-né, s'affaiblit lentement pour rejoindre son stade normal vers la 2ème année. On pourrait multiplier indéfiniment de tels exemples, mettant ainsi en évidence le caractère foncièrement évolutif des activités enzymatiques en fonction de l'âge (14) et leurs importantes applications physio-pathologiques dans l'espèce humaine.

Il nous a paru qu'une recherche de ce genre présenterait un intérêt peut-être plus considérable encore dans le cas d'un organe comme le Thymus, qui, comme on sait, présente la particularité remarquable de connaître, après une phase de développement relativement brève, une involution très prononcée l'amenant à une disparition quasi totale chez l'adulte. C'est dans ce sens que nous avons déjà envisagé l'aspect des activités adénosine triphosphatasique et glucose-6-phosphate déshydrogénasique du thymus de la Souris Swiss entre le 5ème et le 60ème jour (4), et qu'aujourd'hui nous poursuivons cette étude en allongeant la période de vie étudiée de 5 à 90 jours. Nous avons donc repris l'étude de l'ATP-ase, et nous y avons ajouté celle de la catalase, de la créatine-phosphokinase et de la leucine-amino-peptidase. Nous présentons en même temps un examen des variations pondérales du corps et du Thymus, en vue d'établir ultérieurement toutes comparaisons utiles.

Les souris sur lesquelles nous expérimentons, sont de la souche CD-1, fournies par la maison " Charles River France " et qui se reproduisent maintenant dans notre propre élevage. Nous expérimentons avec des séries de 5 à 9 souris pour éliminer, autant que faire se peut, les facteurs individuels. Il faut en outre observer que chez le très jeune souriceau, le poids du Thymus est évidemment très faible, une quinzaine de milligrammes environ, et que, en outre, l'intérieur de l'organisme est rempli de sérosités qui adhèrent aux organes lors de leur prélèvement; ces circonstances confèrent aux pesées de tissus très jeunes une certaine imprécision susceptible de se répercuter sur les estimations enzymatiques effectuées à leur niveau.

EXPERIMENTATION

CHAPITRE I

THYMECTOMIES

Nos animaux sont pesés un à un, et aussitôt sacrifiés. Il nous a fallu d'abord rechercher la méthode la mieux adaptée. Après quelques tâtonnements, nous nous sommes arrêtés au protocole suivant :

Chaque Souris est placée, à son tour, sous un entonnoir renversé dont l'ouverture étroite, dirigée vers le haut, est obstruée par un tampon de coton hydrophile imbibé d'éther. En une quinzaine de secondes, l'animal s'endort. Il est aussitôt fixé sur la planche à dissection, en position dorsale, et retenu par les quatre membres. L'extrémité de son museau est engagé sous un tampon de coton hydrophile fixé à la planche, et imbibé d'éther, en vue d'éviter le réveil intempestif de la victime. Avec une petite pince et une paire de ciseaux pointus et de petites dimensions, on pratique une incision superficielle allant de l'ombilic jusqu'à la base du cou. A l'aide de la pince, on saisit l'extrémité inférieure du sternum et, avec les ciseaux, on sectionne les côtes au ras du sternum en remontant le long de son bord gauche ; puis on écarte, de part et d'autre, les deux moitiés de la cage thoracique ainsi ouverte. On fait immédiatement les trois constatations suivantes :

a) aucune hémorragie ne s'est déclenchée et chaque organe est parfaitement à sa place.

b) les battements cardiaques n'ont pas cessé ; ils continuent à assurer la circulation sanguine.

c) les deux lobes thymiques sont aisément identifiables ; ils se

présentent sous la forme de deux masses blanchâtres, à contours parfaitement définis, ces deux caractères étant ici plus accusés que dans le cas des îlots adipeux de la région étudiée. Chaque lobe est aplati d'avant en arrière, et de forme allongée de haut en bas. Le lobe droit recouvre le quart droit du lobe gauche, sur toute la hauteur. Le tiers inférieur, environ, de chaque lobe recouvre la partie supérieure du cœur et s'appuie sur lui.

On introduit l'une des branches d'une pince à dissection sous les deux lobes, en remontant le plus haut possible vers l'attache du thymus ; on serre modérément la pince et, en tirant doucement, on prélève ainsi toute la glande. Il importe de ne pas engager la pince trop profondément, sinon on rencontrerait les veines jugulaires internes, dans leur trajet à proximité du thymus, et de provoquer ainsi une hémorragie interne abondante et immédiate.

Cette précaution est d'une grande importance pour deux raisons : d'une part, une inondation sanguine locale masquerait le thymus et rendrait difficile sa préhension ; d'autre part, le thymus prélevé dans le sang, en serait plus ou moins recouvert et le dosage enzymatique ultérieur aurait lieu, non pas sur le thymus lui-même, mais sur un mélange très variable de sang et de thymus.

Indiquons dès maintenant, que nous avons fait des dosages enzymatiques comparatifs, d'une part sur des thymus prélevés par la méthode à l'éther décrite ci-dessus, d'autre part sur des thymus provenant d'animaux tués par le bris des vertèbres cervicales ; nous n'avons jamais trouvé de différences sensibles entre les résultats obtenus simultanément, par l'un et par l'autre de ces deux moyens.

Cette constatation est peut-être due au fait que la masse totale du sang contenue dans le thymus est très faible, ainsi que nous le verrons en détail dans un chapitre ultérieur. Nous nous sommes donc autorisés de ces dosages comparatifs pour adopter uniformément la méthode à l'éther.

CHAPITRE II

MESURES PONDERALES

Rappelons que nous avons centré notre étude expérimentale sur la période de la vie s'étendant du 5ème au 90ème jour. Nous envisageons ainsi des organismes passant par des états physiologiques différents : début de la vie autonome, croissance, puberté, période de la pleine maturité. Le souriceau commence à puiser ses matériaux et son énergie dans le lait maternel, puis vers 3 semaines, il se tourne instinctivement vers la nourriture de l'adulte. Celle-ci nous est fournie par l'Usine d'Alimentation Rationnelle, à VILLEMOISSON-sur-ORGE (S-et-O), sous forme de gâteaux circulaires, de composition chimique complète et équilibrée, que nous donnons toujours ad libitum aux souris, ainsi que la boisson qui est de l'eau de la ville.

Comme nos mesures pondérales seront constamment utilisées pour le calcul des activités enzymatiques, nous les présentons en premier lieu.

Les courbes n° 1 et 2, ci-après, et les tableaux I et II des pages suivantes, montrent la croissance pondérale du corps chez le mâle, de 4,43 g ($\sigma = 0,497$) à 43 g ($\sigma = 2,85$) en moyenne sur environ 200 animaux en tout, et chez la femelle de 4,43 g ($\sigma = 0,497$) à 34 g ($\sigma = 3,08$) environ, sur un total voisin de 200 animaux, pendant la période de vie envisagée.

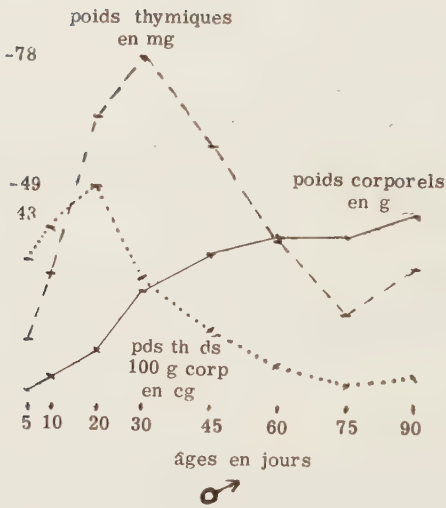
T A B L E A U I
MESURES PONDERALES CHEZ LA SOURIS MALE

Ages en jours	Nombre de souris	POIDS (en grammes)			Ages en jours	Nombre de souris	POIDS (en grammes)		
		corporels moyens	thymiques moyens	de thymus dans 100 g corporels			corporels moyens	thymiques moyens	de thymus dans 100 g corporels
* 5	64	4, 432 $\sigma=0,497$	0, 015 $\sigma=0,003$	0, 328 $\sigma=0,058$	45	34	34, 60 $\sigma=2,41$	0, 058 $\sigma=0,013$	0, 168 $\sigma=0,001$
10	28	7, 26 $\sigma=1,71$	0, 030 $\sigma=0,010$	0, 402 $\sigma=0,113$	60	22	38, 60 $\sigma=2,33$	0, 037 $\sigma=0,009$	0, 096 $\sigma=0,024$
20	18	13, 30 $\sigma=2,15$	0, 065 $\sigma=0,012$	0, 492 $\sigma=0,079$	75	17	38, 80 $\sigma=4,77$	0, 021 $\sigma=0,010$	0, 054 $\sigma=0,023$
30	24	26, 40 $\sigma=3,39$	0, 078 $\sigma=0,019$	0, 297 $\sigma=0,056$	90	17	43, 00 $\sigma=2,85$	0, 031 $\sigma=0,005$	0, 072 $\sigma=0,011$

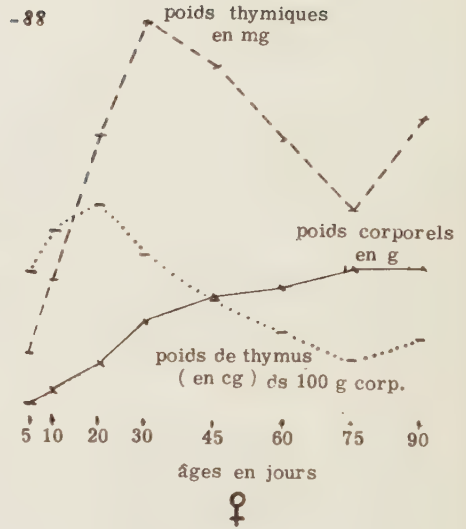
* Mâles et Femelles réunis

T A B L E A U II
MESURES PONDERALES CHEZ LA SOURIS FEMELLE

Ages en jours	Nombre de souris	POIDS (en grammes)			Ages en jours	Nombre de souris	POIDS (en grammes)		
		corporels moyens	thymiques moyens	de thymus dans 100 g corporels			corporels moyens	thymiques moyens	de thymus dans 100 g corporels
					45	27	28, 40 $\sigma=3,15$	0, 078 $\sigma=0,017$	0, 274 $\sigma=0,053$
10	25	7, 10 $\sigma=1,52$	0, 031 $\sigma=0,012$	0, 420 $\sigma=0,113$	60	23	30, 00 $\sigma=2,66$	0, 062 $\sigma=0,016$	0, 203 $\sigma=0,049$
20	19	13, 00 $\sigma=1,45$	0, 063 $\sigma=0,011$	0, 483 $\sigma=0,073$	75	20	34, 00 $\sigma=3,85$	0, 047 $\sigma=0,017$	0, 145 $\sigma=0,049$
30	20	22, 60 $\sigma=1,81$	0, 088 $\sigma=0,019$	0, 373 $\sigma=0,082$	90	21	34, 00 $\sigma=3,08$	0, 067 $\sigma=0,015$	0, 195 $\sigma=0,043$



Courbes n° 1



Courbes n° 2

Simultanément, le thymus suit une évolution un peu plus complexe. On le voit, dans les 30 premiers jours environ de la vie du mâle, passer de 15 mg à 78 mg en moyenne ; chez la femelle, il atteint son maximum de 88 mg vers le 30^{ème} jour également. Puis se déclenche l'involution du thymus ; son poids se met à baisser plus lentement qu'il n'avait augmenté ; chez le mâle, il revient à une moyenne de 21 mg vers le 75^{ème} jour de la vie, tandis que chez la femelle, on le retrouve à 47 mg environ au même âge. Enfin, une reprise pondérale se produit, qui porte le poids de l'organe à 31 mg et à 67 mg, au 90^{ème} jour, respectivement chez le mâle et chez la femelle ; cette reprise pondérale a été observée sur deux séries de 17 mâles âgés respectivement de 75 et de 90 jours, et sur deux séries de 20 femelles environ, âgées respectivement de 75 et de 90 jours également. On sait que le thymus persiste toute la vie chez la Souris (3). Ici, nous nous trouvons en présence d'une nette reprise pondérale de cet organe, reprise dont nous n'avons pas trouvé d'écho dans les recherches bibliographiques que nous avons faites jusqu'à ce jour. Aussi nous continuons simultanément ces dernières qui nous ont déjà donné une abondante moisson dont nous publierons ultérieurement une

une analyse quelque peu détaillée, et notre expérimentation pour essayer d'en déterminer le ou les facteurs responsables : alimentation, saison, éventuellement la souche ayant fourni les premières de nos souris, etc...

Enfin, si l'on calcule le poids de thymus contenu dans 100 g corporels, on met en lumière la très grande variation de l'importance du thymus dans l'ensemble de l'organisme. Ce poids qui est de 0,328 g à l'âge de 5 jours, s'accroît progressivement jusqu'à 0,492 g chez le mâle de 20 jours et jusqu'à 0,483 g chez la femelle du même âge ; puis il diminue simultanément chez les 2 sexes pour se retrouver à 0,054 g et à 0,145 g respectivement chez le mâle et la femelle âgés également de 75 jours ; enfin il reprend, pour atteindre 0,072 g et 0,195 g, respectivement chez le mâle et chez la femelle, au 90^{ème} jour de la vie.

Les courbes données ci-dessus mettent bien en évidence la grande similitude existant quant au sens des variations et quant aux âges où elles ont lieu.

CHAPITRE III

PREPARATION DES HOMOGENATS

A ce stade de l'expérimentation, nous n'avons jamais perdu de vue les préoccupations suivantes :

a) les thymus ne doivent être souillés par aucun autre tissu, ni par aucun liquide organique. Cela nécessite une ouverture correcte de la cage thoracique, et aucune hémorragie ne peut être acceptée, ainsi que nous l'avons expliqué au paragraphe " Thymectomie ". Néanmoins, pour plus de sûreté, chaque thymus est essuyé rapidement sur du papier Joseph, dès son prélèvement ;

b) les thymus ne doivent pas se dessécher, sinon les pesées d'organes frais seront entâchées d'erreur par défaut ;

c) les thymus doivent être refroidis dès leur extraction pour retarder au maximum le déclenchement de l'autolyse ;

d) toute migration extra-tissulaire de l'activité enzymatique doit être évitée, sous peine de n'en évaluer ultérieurement qu'une fraction indéterminée et variable.

C'est pour satisfaire aux quatre exigences précédentes que nous avons constamment opéré comme suit :

Dans des coupelles en bakélite, semblables entre elles et de petites dimensions (environ 15 mm de diamètre intérieur et 5 mm de profondeur) et de poids connu c, on dépose une faible quantité (de l'ordre de 0,3 ml) du liquide (eau distillée ou tampon suivant le cas) dans lequel sera fait l'homogénat ; on pèse l'ensemble immédiatement ; du poids total, on soustrait le poids connu c de la coupelle vide, ce qui donne la poids s de liquide déposé dans la coupelle. Celle-ci et son contenu sont ensuite posés sur un bloc de glace placé à côté de la table de thymectomie.

Au fur et à mesure de l'opération des souris, chaque lobe est immédiatement roulé sur du papier Joseph, puis immergé dans la solution glacée contenue dans la coupelle. De cette manière, on n'utilise que des thymus propres, et l'autolyse ainsi que la dessiccation ne sont pas à craindre. S'il se produit quelque migration enzymatique hors du tissu, elle aboutit dans la solution contenue dans la coupelle et qui fera partie de l'homogénat total ultérieur, comme on va le décrire maintenant.

Lorsque tous les thymus ont ainsi été immergés, chaque coupelle et son contenu sont de nouveau pesés ; du poids $\underline{p}$ trouvé, on retranche la somme : poids $\underline{c}$ de la coupelle vide + poids $\underline{s}$ de liquide qu'elle contient, et l'on obtient alors le poids $\underline{t}$ de tissu thymique prélevé : $p - (c + s) = t$. On calcule la quantité totale $\underline{q}$ de liquide demandée par le taux de dilution auquel on travaille ; on retranche la quantité connue $\underline{s}$ de liquide déjà contenue dans la coupelle ; la différence $\underline{q} - \underline{s}$ de liquide est versée dans un tube en verre spécial (dimensions approximatives : longueur 90 mm ; diamètre intérieur 20 mm ; épaisseur de la paroi 2 mm) et on y projette la coupelle et son contenu ; puis, avec une longue pince, on retire la coupelle en ayant soin évidemment de ne pas retirer les lobes thymiques. On n'a plus alors, dans chaque tube en verre, que le thymus et la totalité de son véhicule liquide, prêts à passer à l'homogénéiseur.

Mais pendant que les thymectomies s'effectuent successivement, il se peut qu'une faible quantité du liquide contenu dans la coupelle s'évapore, malgré la précaution prise de placer la coupelle et son contenu sur un bloc de glace ; cette évaporation éventuelle, toujours minime d'ailleurs, est surtout à craindre dans le cas où l'on thymectomise des souriceaux. En effet, dans ce cas l'opération, plus délicate que sur des animaux adultes, demande plus de temps ; en outre, le thymus étant de faible masse (une quinzaine de mg en moyenne, à l'âge de 5 jours), on est conduit, pour limiter les erreurs relatives au moment de la dilution et de l'homogénéisation, à recueillir puis à mélanger les glandes de plusieurs animaux, ce qui constitue une opération relativement longue et qui, par conséquent, accroît l'importance éventuelle de l'évaporation. Il faut donc déterminer celle-ci avec soin, ce qui nous a amenés à faire chaque fois, un témoin préparé ainsi :

On prend une coupelle de même dimension et de même nature que les précédentes ; on y verse le liquide même destiné à l'homogénat, et en quantité sensiblement égale à celle versée dans la première coupelle ; on pèse le contenant et son contenu, puis le tout sera traité exactement comme la coupelle destinée à recevoir les thymus sauf, bien entendu, qu'on n'y mettra pas le thymus. Puis, à la fin des thymectomies, on pèse de nouveau la coupelle-témoin et son contenu ; s'il y a une différence entre cette seconde pesée et la première, elle provient de l'évaporation de

la solution ; on considère que cette évaporation est identique dans les coupelles contenant le thymus ; il suffit alors d'ajouter le poids de solution évaporée, au poids des thymus pour avoir le poids réel de ceux-ci. Un calcul simple indique la quantité de solution à ajouter pour obtenir un mélange " liquide + thymus " dans le rapport pondéral désiré. (La pratique nous a montré que ces précautions sont superflues et qu'on peut les supprimer). Le mélange " liquide + thymus " est fait dans un tube de verre semblable à ceux destinés aux homogénéisations.

Le tube et son contenu sont plongés dans une solution " $H_2O + ClNa$ " à basse température, puis on y fait fonctionner l'homogénéiseur " Ultra-Turrax " ou " Potter ", suivant le cas 2 fois 10 secondes, séparées par un temps de refroidissement de 10 secondes, séparées par un temps de refroidissement de 10 secondes également. L'homogénat total ainsi préparé est utilisé immédiatement pour l'estimation de l'activité enzymatique.

CHAPITRE IV

DOSAGE DU SANG DANS LES HOMOGENATS

Une remarque, riche de conséquences, a ici sa place naturelle : comme tous les tissus, le thymus est continuellement irrigué par le sang, de sorte qu'au moment de son prélèvement, une certaine quantité de sang se trouve dans les vaisseaux de cette glande et se retrouve ensuite dans les homogénats qu'on en fait pour les mesures enzymatiques. Or ce sang contient lui-même un équipement enzymatique considérable dont la conséquence, pour le point de vue qui nous occupe, est la suivante : les activités enzymatiques mesurées dans les homogénats thymiques, sont donc constituées partie par des enzymes thymiques, et partie par des enzymes sanguines. L'évaluation finale des activités thymiques ne pourra être obtenue qu'en faisant la part des activités sanguines, ce qui implique la recherche préalable du sang dans les homogénats thymiques, par le dosage du fer notamment.

Nous nous sommes servis d'une méthode d'analyse quantitative couramment utilisée en laboratoire (23) dont nous rappelons le principe : après libération du fer par l'acide sulfurique et le persulfate d'ammonium, le métal passe à l'état de sulfocyanate ferrique dont la coloration rose est évaluée au photocolorimètre. Nous avons recherché à quelles dilutions il faut préparer d'une part les homogénats thymiques et d'autre part les dilutions sanguines, pour que, en fin de dosage, on ait des colorations d'intensités équivalentes. Nous avons trouvé 1/100 pour les homogénats thymiques et 1/2.000 pour les dilutions sanguines. Il y aurait donc la même quantité de fer dans chacune de ces préparations, c'est-à-dire que le thymus contiendrait, au moment de son prélèvement, une quantité de sang égale au 1/20 du poids total prélevé. En réalité, cette valeur doit être inférieure à 1/20, car le dosage a concerné tout le fer contenu dans la préparation, laquelle

contient bien le fer de l'hémoglobine, mais aussi celui des cytochromes indispensables aux oxydations intra-cellulaires. Cette valeur de $1/20$ environ a été trouvée, sans écart important (de $1/18$ à $1/20$), en travaillant sur des souris âgées de 10, de 30 et de 75 jours. Il y aura donc lieu de tenir compte de cette présence de sang dans le thymus lors de l'estimation quantitative des activités enzymatiques dans la glande elle-même.

Outre ces précisions concernant la répartition quantitative des activités enzymatiques entre la masse thymique et la masse sanguine qui l'irrigue, nous avons tenu, chaque fois que cela était possible, à rechercher la localisation de ces activités entre les différentes zones de la glande. Cette partie du travail a été exécutée en collaboration avec le laboratoire d'histologie de la Faculté de Médecine, sous l'égide de Monsieur le Professeur TURCHINI, que nous remercions ici très vivement pour sa précieuse obligeance. Sur des thymus fournis par nous, il a fait pratiquer des coupes et des colorations très démonstratives, que nous présenterons, enzyme par enzyme, avec nos résultats chiffrés.

CHAPITRE V

CATALASE

(H_2O_2 : H_2O_2 oxydoréductase)(1.11.1.6)

On sait que certaines enzymes comme l'uricase, la mono-amine-oxydase, la xanthine-oxydase, la pyruvate-oxydase, etc., réduisent directement l'oxygène en peroxyde d'hydrogène (25, 15 et 43), lequel est toxique pour les tissus vivants ; ce serait précisément à la catalase que reviendrait la charge de le décomposer en eau et en oxygène moléculaire inactif. D'après CHANCE et FERGUSON, cités par BROUSSY (8), l'enzyme fixe une molécule de substrat, formant ainsi un complexe qui réagit ensuite sur une seconde molécule de substrat ou sur un donneur d'hydrogène (un alcool par exemple) ; ce dernier cas " mènerait à l'oxydation de certains métabolites qui servent de source d'énergie " ; la première partie de la catalyse seule est monomoléculaire.

A - Mode opératoire :

L'activité de la catalase peut s'évaluer par des méthodes de principes variés. Nous avons, quant à nous, adapté au thymus la méthode mise au point pour le sang total, par A. CASTAIGNE et coll. (12) et dont voici l'essentiel : la suspension tissulaire est incubée avec de l'eau oxygénée, puis on arrête la réduction de celle-ci par acidification sulfurique, et on dose par manimétrie l'eau oxygénée restante. Nous avons fixé les détails expérimentaux en tenant compte des remarques suivantes :

a) à des durées différentes de l'incubation, correspondent des quantités différentes d'eau oxygénée réduite. C'est ainsi que la quantité de substrat décomposé croît très rapidement pendant les premières minutes de l'incubation et proportionnellement au temps d'incubation, puis elle s'accroît de moins en moins vite ;

b) les remarques précédentes, concernant la durée de l'incubation, se trouvent plus ou moins modifiées si l'on fait varier la température à laquelle on incube. Des essais préliminaires nous avaient montré que :

- à 37°, la quantité d'eau oxygénée réduite n'augmente plus que faiblement à partir de la 15ème minute ;
- à 25°, ce pseudo-palier n'est atteint que vers la 30ème minute ;
- à 11° l'activité catalasique ne fléchit fortement que vers la 2è heure ;
- à 1° enfin, l'activité se maintient beaucoup plus constante, même jusqu'à la 6ème heure ; à ce moment-là, la quantité d'eau oxygénée décomposée est supérieure à celles décomposées aux autres températures mentionnées ci-dessus, au bout du même temps.

C'est en tenant compte de l'ensemble de ces remarques, que nous avons adopté les précisions suivantes :

- utilisation d'un tampon phosphate disodique 0,05 M ajusté à pH=7,0 ;
- incubation à la température physiologique de 37° C, pendant 4 minutes exactement ;
- homogénats tissulaires préparés directement dans le tampon.

Les incubations thymiques sont faites avec :

3 ml de tampon,

3 ml de H_2O_2 diluée à 0,0529 M dans le tampon,

ce qui correspond à 158,647 μM de H_2O_2 pure.

Ce mélange est plongé quelques instants dans le bain-marie pour qu'il atteigne la température de 37°, puis tout en le laissant immergé, on y ajoute 0,4 ml d'homogénat thymique au 1/100 comprenant 4 mg de tissu. Au bout de 4 minutes exactement, la réaction enzymatique est arrêtée par addition de 6 ml d'acide sulfurique au 1/5 (v/v) ; on sort du bain-marie et on agite modérément ; on y ajoute alors 20 ml d'eau distillée ; nouvelle agitation modérée, puis, à la burette, on verse du MnO_4K (N/50) jusqu'à persistance d'une légère teinte rose (on sait qu'en milieu sulfurique le permanganate et l'eau oxygénée mélangés se décomposent simultanément en libérant autant d'oxygène l'un que l'autre ; quand il n'y a plus d'eau oxygénée, le permanganate ne se décompose plus et il commence à colorer la solution en rose ; c'est donc l'apparition persistante de cette teinte qui marque la fin de l'addition de permanganate). Plus l'activité catalasique a été intense, plus grande est la quantité d'eau oxygénée réduite et, donc, moins il faudra de MnO_4K pour décomposer le peroxyde d'hydrogène restant après l'incubation avec la préparation enzymatique ; soit n le nombre de ml de permanganate versés.

En plus des tubes à activité enzymatique indiqués ci-dessus, il faut préparer :

- un tube témoin-zéro servant à déterminer la quantité de permanganate nécessaire pour décomposer toute l'eau oxygénée mise dans

les tubes à activité enzymatique ci-dessus, mais sans faire intervenir l'action réductrice de la préparation tissulaire. Ce tube comprend 3 ml de tampon, 3 ml d'eau oxygénée diluée, 6 ml d'acide sulfurique (destiné à empêcher le démarrage de la réaction enzymatique), puis 0,4 ml de suspension thymique et 20 ml d'eau distillée, le tout non incubé et recevant immédiatement la quantité de MnO_4K nécessaire pour décomposer toute l'eau oxygénée mise dans le tube ; soit $\underline{n}$ le nombre de ml de solution potassique versée.

- un tube d'activité spontanée comprenant les mêmes quantités de tampon et d'eau oxygénée que les tubes précédents, mais où la préparation enzymatique est remplacée par un égal volume de tampon ; le tout est incubé 4 minutes à 37° , puis reçoit les 6 ml d'acide sulfurique, les 20 ml d'eau distillée, puis la quantité $\underline{n''}$ de MnO_4K nécessaire pour obtenir la coloration rose. Pratiquement, nous n'avons pas trouvé de destruction spontanée du substrat et $\underline{n''} = \underline{n'}$.

B - Résultats -

Rappelons que les quantités de permanganate utilisées sont : $\underline{n}$ ml pour les préparations thymiques

$\underline{n'}$ ml pour le témoin -zéro,

$\underline{n''}$ ml pour l'activité spontanée.

Si $\underline{n'}$ ml correspondent à 158,647 μM de H_2O_2 pure présentes, 1 ml correspond à $\underline{n'}$ fois moins, et $\underline{n}$ ml à $\underline{n}$ fois plus :

$$\frac{158,647 \times \underline{n}}{\underline{n'}} = \underline{x} \mu\text{M de } \text{H}_2\text{O}_2 \text{ pure présentes en fin de}$$

réaction. L'activité catalasique des 4 mg de tissu mis à incuber a donc réduit $158,647 - \underline{x} = \underline{N}$ μM de peroxyde d'hydrogène pur.

Nous donnons l'activité catalasique du thymus suivant les 4 expressions ci-après :

Nombre de μM de H_2O_2 pure réduites par les 4 mg de thymus de la prise d'essai ; puis, à partir de ces résultats, calcul du nombre de μM de H_2O_2 pure qui seraient réduites par 1 mg de thymus (ce qui donne l'activité spécifique du tissu thymique), puis par le thymus entier, enfin par le poids de thymus qui serait contenu dans 100 g de poids corporel ; ces deux dernières expressions fournissent : la première, ce que l'on pourrait appeler la "capacité catalasique totale" du thymus, la seconde, l'importance de l'activité catalasique du thymus dans un même poids corporel, malgré les variations pondérales du corps et du thymus. Tous ces résultats sont groupés dans le tableau III et dans les deux courbes n° 3 ci-joints :

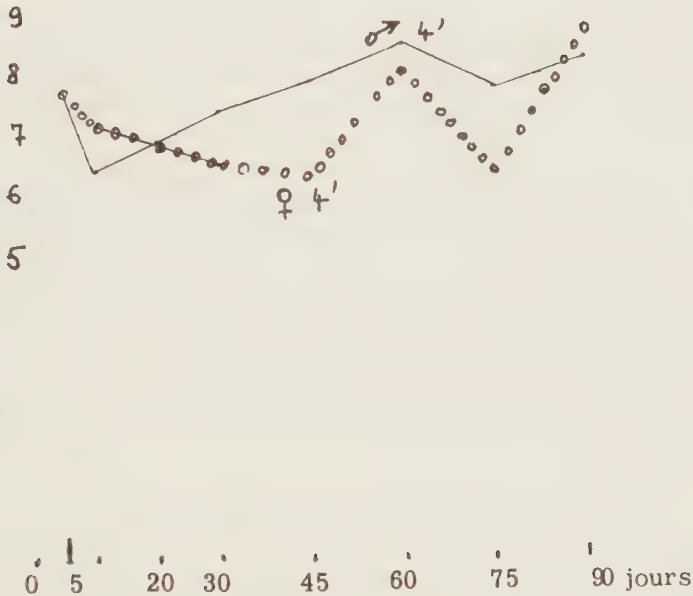
TABLEAU III : CATALASE

(Moyenne de nos résultats expérimentaux)
Incubation : 4 minutes

Âges (jours)	Sexe et Nbre des animaux	la prise d'essai (4 mg de thymus)		μM de peroxyde d'hydrogène réduites par 1 mg de thymus le thymus entier				le poids de thymus dans 100 g corp.		l'activité spontanée
		M	σ	M	%	M	%	M	%	
★ 5 10 20 30 45 60 75 90	Mâles									M
	24	30, 84	6, 51	7, 71		102, 14		2. 622, 48		0
	5	25, 62	4, 45	6, 40	- 17	185, 24	+ 81	2. 312, 69	±12	0
	5	27, 46	3, 02	6, 87	- 11	377, 90	+ 270	3. 017, 86	+15	0
	7	29, 71	3, 51	7, 43	- 4	479, 94	+ 370	1. 792, 45	-32	0
	5	31, 53	3, 58	7, 88	+ 2	377, 19	+ 269	1. 138, 24	-57	0
	6	33, 97	6, 28	8, 49	+ 10	285, 38	+ 179	718, 30	-73	0
	6	31, 27	8, 13	7, 82	+ 1	239, 55	+ 144	632, 71	-76	0
	6	33, 23	6, 61	8, 30	+ 8	236, 03	+ 131	549, 10	-80	0
10 20 30 45 60 75 90	Femelles									
	6	28, 41	3, 97	7, 10	- 8	302, 24	+ 196	4. 142, 30	+58	0
	7	27, 32	6, 34	6, 83	- 11	424, 98	+ 316	3. 271, 76	+25	0
	5	25, 87	0, 88	6, 47	- 16	528, 98	+ 418	2. 299, 47	-12	0
	5	25, 05	1, 83	6, 26	- 19	469, 33	+ 359	1. 643, 00	-37	0
	6	32, 56	6, 65	8, 14	+ 6	448, 76	+ 339	1. 524, 43	-42	0
	7	25, 78	3, 57	6, 44	- 16	331, 78	+ 225	1. 031, 37	-61	0
	5	35, 40	10, 79	8, 85	+ 15	399, 55	+ 291	1. 237, 29	-53	0

★ Pour le seul âge de 5 jours, nous avons expérimenté sur des mélanges d'organes de mâles et de femelles.

μM de peroxyde d'hydrogène
pur réduites



Courbes n° 3 : Catalase.

(Activité de 1 mg de thymus)

Leur lecture fait immédiatement apparaître la grande stabilité de l'activité catalasique du tissu thymique pendant les 3 premiers mois de la vie de la Souris, les extrêmes étant 6,40/8,49 μM de H_2O_2 pure réduites par 1 mg de tissu chez le mâle, et 6,47/8,85 chez la femelle. Cette constance a été signalée antérieurement. Citant ABDERHALDEN (1), BROUSSY et AMSELEM (9) écrivent : " L'activité catalasique du sang d'un sujet donné est une constante. C'est ainsi qu'il définit " le nombre de catalase " (N.C.) comme étant la quantité de peroxyde d'hydrogène détruit par la catalase d'un microlitre de sang, " l'index de catalase " (I.C.) étant le nombre de catalase rapporté au million d'érythrocytes ". D'autre part, dans le cadre d'une étude de l'activité enzymatique des globules rouges en fonction de leur âge (33), il a été constaté qu'il n'y a pas de corrélation entre les deux facteurs " activité enzymatique " et " âge de la population cellulaire ". Nos homogénats thymiques nous ont présenté, eux aussi, cette fixité de l'action catalasique déjà trouvée dans le sang.

C'est en raison de cette constance par unité de poids de thymus que l'activité catalasique totale du thymus est exactement parallèle à l'évolution du poids thymique : partant de $102 \mu\text{M}$ de substrat réduites, elle atteint $480 \mu\text{M}$ au 30ème jour et retombe à $236 \mu\text{M}$ au 90ème jour de la vie du mâle ; chez la femelle, l'activité s'élève à près de $530 \mu\text{M}$ au 30ème jour, redescend à 332 au 75ème jour et présente une légère recrudescence à $400 \mu\text{M}$ au 90ème jour.

Quant à l'activité catalasique du poids de thymus qui serait contenu dans 100 g de poids corporel, elle évolue ainsi chez le mâle : de $2.600 \mu\text{M}$ au 5ème jour de la vie, elle s'élève jusqu'à $3.000 \mu\text{M}$ au 20ème jour, puis elle baisse très fortement jusqu'à $550 \mu\text{M}$ au 90ème jour. Son évolution est assez différente chez la femelle où le maximum est atteint dès le 10ème jour à $4.150 \mu\text{M}$; on constate ensuite une décroissance ininterrompue jusqu'à $1.000 \mu\text{M}$ environ au 75ème jour, puis une légère reprise à $1.200 \mu\text{M}$ au 90ème jour de la vie, correspondant à la légère reprise pondérale du thymus signalée plus haut (paragraphe 2 : Mesures pondérales).

Certaines remarques faites au cours de notre expérimentation nous font songer, à titre encore purement hypothétique, à l'existence de facteurs familiaux qui amèneraient des groupes de frères et de sœurs à avoir une activité catalasique moyenne nettement plus élevée ou plus faible que d'autres groupes du même âge, ou bien à une influence saisonnière plus ou moins marquée ; nous demanderons à des expériences ultérieures d'éclairer, si possible, notre opinion sur ces problèmes.

Une remarque importante s'impose ici : on sait que l'activité de la catalase est intense dans le sang des mammifères, surtout au niveau des érythrocytes, ainsi qu'il ressort de nombreuses publications déjà rapportées par nous (13) et auxquelles nous avons joint nos propres recherches expérimentales (2, 10, 11, 12). Comme il y a toujours du sang en transit dans les vaisseaux de l'organe qu'on prélève, on pouvait se demander si l'activité catalasique mesurée précédemment par nous dans les lyophilisats de thymus (27) et plus récemment dans des homogénats aqueux de thymus frais, provenait seulement du sang en transit lors de la thymectomie, ou si elle était la somme d'activités catalasiques réparties entre le sang et le tissu thymique proprement dit.

Pour répondre à cette question, il aurait été intéressant de faire une réaction histo-chimique adaptée à la catalase dont on aurait ainsi fixé la localisation ; malheureusement, pour l'instant tout au moins, nous n'avons pas trouvé trace d'une telle réaction dans la bibliographie.

Nous nous sommes alors tournés vers l'analyse quantitative, et c'est ainsi que nous avons dosé colorimétriquement le

fer contenu dans nos homogénats thymiques au 1/100 (voir détails p. 71). Rappelons seulement ici que nos estimations nous ont donné une teneur maximale de 1/2.000 de sang dans les homogénats thymiques au 1/100 . Dès lors, notre problème se ramène à ceci : y a-t-il une différence quantitative entre l'activité catalasique d'un homogénat thymique au 1/100, et celle d'une dilution sanguine au 1/2.000 ? En effet, si l'activité catalasique de l'homogénat est supérieure à celle de la dilution sanguine, c'est le tissu thymique qui est responsable de cette différence ; par contre, s'il y a égalité entre les deux activités enzymatiques, c'est que le sang seul apporte l'activité catalasique mesurée dans les homogénats.

Pour savoir à quoi nous en tenir, nous avons préparé des homogénats thymiques au 1/100 et des dilutions sanguines au 1/2.000, provenant deux à deux des mêmes souris, et nous avons mesuré les quantités d'eau oxygénée pure détruites par les unes et par les autres de ces préparations, dans les conditions expérimentales décrites plus haut ; nous avons obtenu les résultats suivants, classés souris par souris :

Sexes et âges	Nombre de μ M de H_2O_2 pure détruites par		pourcentages dus au thymus
	l'homogénat thymique	la dilution de sang	
M 27 j.	23, 27	6, 11	74
M 35 j.	21, 72	7, 74	64
F 20 j.	33, 31	12, 69	62
M 38 j.	31, 73	12, 69	60
M 38 j.	33, 31	11, 10	67

Il apparaît donc une différence très nette entre les activités catalasiques des préparations comparées. Trois hypothèses semblent pouvoir être avancées pour expliquer ces différences d'activité :

a) le tissu thymique lui-même est porteur de catalase, dont l'action s'ajoute à celle du sang contenu dans la glande au moment de son prélèvement;

b) le tissu thymique ne contient pas de catalase, mais il apporte un ou plusieurs activateurs qui exaltent l'activité de la catalase sanguine;

c) le tissu thymique contient à la fois de la catalase et un activateur, lequel agit simultanément sur l'enzyme thymique et sur l'enzyme sanguine.

C'est à l'expérimentation que nous demanderons vers laquelle de ces trois hypothèses il convient de se tourner pour jeter quelques lueurs sur ce problème.

CHAPITRE VI

CREATINE - PHOSPHOKINASE

(ATP-créatine-phosphotransférase) (2. 7. 3. 2)

Cette enzyme a été choisie pour notre étude, avec l'ATP-ase présentée plus loin, en raison de son rôle dans la libération de l'énergie nécessaire à la contraction musculaire. Celle-ci varie évidemment beaucoup avec l'âge, depuis la quasi-immobilité du souriceau n'effectuant pas d'autre dépense musculaire " volontaire " que celle demandée par les mouvements au moment de la tétée, jusqu'aux mouvements incessants de l'adulte qui court et qui grimpe continuellement dans sa cage, tout le temps où il ne dort pas. La créatine-phosphokinase intervient en faisant passer le phosphate à haute énergie aux dépens de la phospho-créatine, sur la molécule d'ADP, formant ainsi l'ATP, réservoir d'énergie utilisable par les muscles en hydrolysant la liaison phosphate terminale et en libérant ainsi de la créatine.

A - Mode opératoire -

C'est le dosage colorimétrique de cette dernière qui nous permet l'estimation quantitative de l'activité enzymatique. Pour ce faire, nous avons suivi à peu près la méthode proposée par DREYFUS et SCHAPIRA (16). Les réactifs utilisés sont :

- solution d'adénosine-diphosphate de sodium (Boehringer) à 0,6 p. 100 dans l'eau distillée, de pH = 7,2.
- solution de phosphate de créatine (Boehringer) 0,006 M, de pH = 7,2.
- tampon Tris à pH = 7,2, composé de :

Hydroxyméthyl-aminométhane	1,21 g
Chlorure de magnésium	1,015 g
Eau distillée, qsp	100 ml

- solution zincique :
 - sulfate de zinc à 7 H₂O 5 g
 - Eau distillée, qsp 100 ml

- solution barytique :
 - hydroxyde de baryum environ 5 g
 - eau distillée, qsp 100 ml

Cette solution doit être titrée tous les mois à l'aide de la solution de sulfate de zinc et ajustée de façon à ce que les deux réactifs se correspondent volume à volume.

- solution alcaline :
 - carbonate sodique anhydre 80 g
 - hydroxyde de sodium 30 g
 - eau distillée, qsp 500 ml

- solution mère de diacétyl :
 - diacétyl 1 ml
 - eau distillée, qsp 100 ml

- solution extemporanée de diacétyl dilué :
 - solution mère de diacétyl 1 ml
 - eau distillée 24 ml

- solution extemporanée d' α -naphtol :
 - α -naphtol 100 mg
 - solution alcaline, qsp 10 ml

- solution extemporanée de phospho-créatine :
 - tampon Tris 4 ml
 - eau distillée 4 ml
 - solution de phospho-créatine 2 ml

- solution mère de créatine :
 - monohydrate de créatine 124,25 mg
 - eau distillée, qsp 100 ml

- solution extemporanée de créatine diluée :
 - solution mère de créatine 1 ml
 - eau distillée, qsp 100 ml

En premier lieu, nous avons préparé une gamme-étalon dont la composition, calquée sur celle des tubes à activité enzymatique, est la suivante :

N° des tubes	0	1	2	9	10
solution diluée } de créatine	0	0,3 ml	0,6	2,7	3,0
eau distillée	3,5 ml	3,2	2,9	0,8	0,5
solution d' α - } naphthol	1 ml	1	1	1	1
solution diluée } de diacétyl	0,5 ml	0,5	0,5	0,5	0,5
Nombre de μ M de créatine/tube	0	0,025	0,050	0,225	0,250

Cette gamme passée au photo-colorimètre à $560\text{ m}\mu$ et lue en densités optiques, nous a fourni une courbe à laquelle nous avons, par la suite, rapporté tous nos tubes à expérience, ce qui nous donnait immédiatement le nombre de μ M de créatine libérée par l'enzyme, à partir de la phospho-créatine mise à incuber.

Voici maintenant comment était menée chaque expérience proprement dite.

Dans des tubes à hémolyse d'environ 8 ml, on verse :

solution extemp. de phospho-créatine 0,5 ml
homogénat aqueux au 1/100 0,1 ml
solution d'ADP 0,2 ml

On prépare également un tube destiné à la mesure de l'activité spontanée, dont la composition est celle indiquée ci-dessus, sauf l'homogénat aqueux remplacé par un égal volume d'eau distillée.

Enfin, on prépare le tube destiné à régler le zéro du colorimètre, cette préparation ayant pour souci de bloquer dès le début l'activité enzymatique grâce à la précipitation par le sulfate de zinc :

homogénat aqueux au 1/100 0,1 ml
solution de sulfate de zinc 0,2 ml
solution de baryte 0,2 ml
solution extemp. de phospho-créatine 0,5 ml
solution d'ADP 0,2 ml

Tous ces tubes sont préparés en double, puis bouchés et plongés dans un bain-marie à 37° , les uns pendant 15 minutes, les autres pendant 30 minutes. En fin d'incubation tous les tubes (sauf les témoins - zéro) reçoivent 0,2 ml de sulfate de zinc et 0,2 ml de baryte.

Agitation, repos de 10 minutes, puis centrifugation à 4000 tours pendant 5 minutes. Dans une autre série de tubes portant les

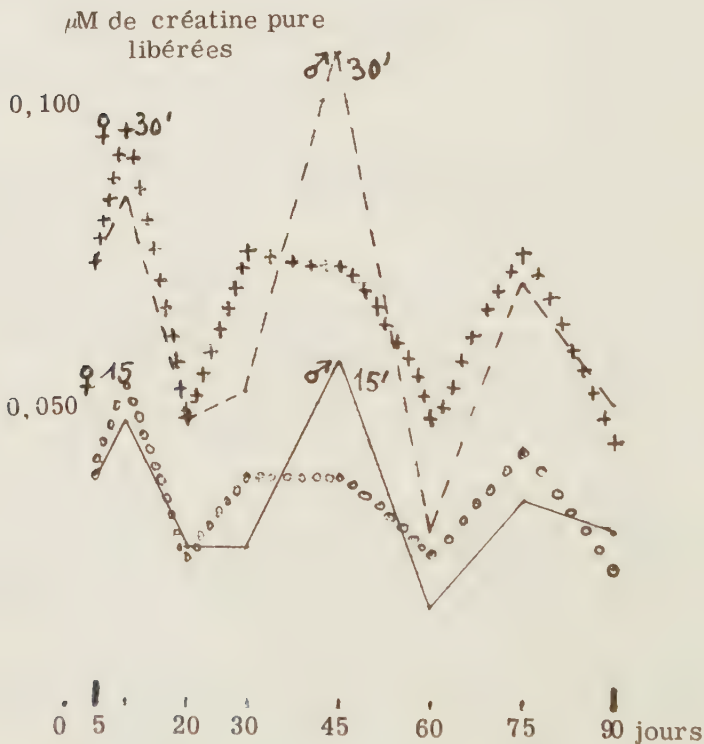
mêmes numéros que les précédents, on fait la réaction colorée de la créatine libérée, de la manière suivante :

surnageant des tubes précédents 0,5 ml
 eau distillée 3 ml
 α -naphtol 1 ml
 diacétyl dilué 0,5 ml

On bouche et on retourne chaque tube pour homogénéiser le mélange, on laisse la teinte rose éventuelle se développer pendant 20 minutes à l'obscurité, puis on passe au photocolorimètre

B - Résultats -

L'activité de la créatine-kinase présente des variations nombreuses et accusées entre le 5ème et le 90ème jour de la vie, ainsi qu'en témoignent les tableaux IV a et IV b, et l'ensemble des courbes n° 4.



Courbes n° 4 - Créatine-phosphokinase

(Activité de 1 mg de Thymus)

TABLEAU IVa : Créatine-phosphokinase

(Moyenne de nos résultats expérimentaux)
Incubation : 15 minutes

μ M de créatine pure libérées par

Ages (jours)	Sexe et Nbre des animaux	La prise d'essai (1 mg de thymus)			Le thymus entier		Le poids de thymus dans 100 g corp.		L'activité spontanée
		M	σ	%	M	%	M	%	
★ 5 10 20 30 45 60 755 90	Mâles								M
	20	0,038	0,013		0,657		13,867		0
	6	0,047	0,025	- 24	1,824	+ 176	23,346	+ 68	23, 0
	6	0,026	0,005	- 32	1,679	+ 155	11,726	- 15	0
	6	0,026	0,016	- 32	1,635	+ 149	6,094	- 56	0
	6	0,057	0,010	+ 50	3,170	+ 383	9,065	- 35	0
	6	0,016	0,004	- 58	0,713	+ 9	1,889	- 86	0
	6	0,034	0,007	- 11	0,953	+ 45	2,366	- 83	0
	6	0,029	0,013	- 24	1,036	+ 58	2,344	- 83	0
	Femelles								
	10	0,053	0,014	+ 19	1,747	+ 166	23,781	+ 72	0
	20	0,025	0,006	- 34	1,507	+ 129	11,466	- 17	0
	30	0,038	0,12	0	2,794	+ 325	12,436	- 10	0
	45	0,038	0,006	0	2,499	+ 280	8,392	- 40	0
	60	0,025	0,000	- 34	1,906	+ 190	5,939	- 57	0
	75	0,042	0,007	+ 10	2,378	+ 262	6,493	- 53	0
	90	0,023	0,005	- 39	1,247	+ 90	3,667	- 74	0

★ Pour le seul âge de 5 jours, nous avons expérimenté sur des mélanges d'organes de mâles et de femelles.

TABLEAU IV b : Créatine-phosphokinase

(Moyenne de nos résultats expérimentaux)

Incubation : 30 minutes

μ M de créatine pure libérées par

Ages (jours)	Sexe et Nbre des animaux	La prise d'essai (1 mg de thymus)			Le thymus entier		Le poids de thymus dans 100 g corp.		L'activité spontanée
		M	σ	%	M	%	M	%	
* 5	Mâles								M
10	20	0,073	0,025		1,361		29,496		0
20	6	0,084	0,031	+ 15	3,144	+ 131	40,575	+ 38	0
30	6	0,047	0,012	- 36	2,982	+ 119	20,966	- 29	0
45	6	0,052	0,025	- 29	3,257	+ 139	12,324	- 58	0
60	6	0,108	0,017	+ 48	5,967	+ 338	17,068	- 42	0
75	6	0,099	0,006	- 60	1,323	- 3	3,509	- 88	0
90	6	0,070	0,015	- 4	1,940	+ 42	4,780	- 84	0
	6	0,050	0,025	- 31	1,791	+ 31	4,066	- 86	0
Femelles									
10	6	0,095	0,024	+ 30	3,136	+ 130	42,834	+ 45	0
20	6	0,047	0,009	- 36	2,792	+ 105	21,437	- 27	0
30	6	0,075	0,022	+ 3	5,374	+ 295	23,999	- 19	0
45	5	0,073	0,012	0	4,775	+ 251	16,050	- 46	0
60	6	0,048	0,012	- 34	3,539	+ 160	11,048	- 63	0
75	6	0,075	0,014	+ 3	4,249	+ 212	11,617	- 61	0
90	5	0,044	0,008	- 40	2,333	+ 71	6,847	- 77	0

* Pour le seul âge de 5 jours, nous avons expérimenté sur des mélanges d'organes de mâles et de femelles.

En 15 minutes d'incubation, 1 milligramme de thymus âgé de 5 jours libère $0,04 \mu\text{M}$ de créatine pure ; un premier sommet est atteint au 10ème jour avec $0,05 \mu\text{M}$ pour le mâle et la femelle, puis les courbes descendent à $0,03$ et $0,02$ respectivement pour le mâle et la femelle ; celle des mâles remonte au maximum de $0,06 \mu\text{M}$ à 45 jours, alors que celle des femelles plafonne à $0,04$ vers les 30ème et 40ème jours ; on assiste enfin à un affaiblissement, chez les deux sexes, pour aboutir à $0,03$ et $0,02 \mu\text{M}$ au 90ème jour.

Après 30 minutes d'incubation, on trouve une courbe de résultats tout à fait parallèle à celle des incubations de 15 minutes, les valeurs absolues ayant été un peu moins que doublées. A remarquer le contraste existant entre les courbes de la catalase s'éloignant peu de l'horizontale, et celles de la créatine-kinase, très tourmentées. A noter aussi, dans le cas de cette dernière, que les σ atteignent parfois des valeurs assez élevées qui, cependant n'affectent pas sensiblement l'allure générale de la courbe tracée en fonction de l'âge. A cette occasion, nous rappelons que chaque thymus étudié a donné lieu à un homogénat particulier ; nous avons systématiquement écarté la méthode des mélanges d'organes qui aurait fourni des résultats plus homogènes, mais qui aurait masqué les très grandes variations individuelles qui existent en réalité. HUGHES (21), cité par SCHAPIRA et DREYFUS (34) donne, comme quantités normales de créatine formée par le sérum de l'homme adulte, de $0,79$ à $3,75 \mu\text{M}$ par heure et par ml de sérum, et de $0,36$ à $2,96$ pour la femme, soit des variations pouvant atteindre les rapports approximatifs de 1 à 4,6 et de 1 à 8,2.

Les courbes ci-jointes présentent une baisse très marquée vers le 20ème jour ; signalons, sans vouloir créer une relation de cause à effet, que c'est l'époque à laquelle la jeune souris abandonne le lait maternel et se tourne vers la nourriture de l'adulte. Ensuite, on constate un sommet de la courbe vers le 45ème jour, qui est l'âge où l'animal devient apte à la reproduction. Enfin, on trouve un second minimum, un troisième sommet et un dernier minimum respectivement à 60, à 75 et à 90 jours, donnant à la courbe un aspect presque cyclique dont la période serait d'une quinzaine de jours.

De quel phénomène profond ce cycle éventuel trahit-il l'existence ? Il est difficile de se prononcer, mais il est sans doute permis de constater que ce cycle concerne une activité enzymatique en relation avec la dépense musculaire de l'organisme ; celle-ci présenterait des alternances d'intensité dont l'origine n'apparaît pas encore mais il est remarquable que ces phénomènes, liés à l'activité musculaire, sont beaucoup plus apparents chez le sexe fort que chez le sexe faible.

CHAPITRE VII

ADENOSINE-TRIPHOSPHATASE

A. T. P. -phosphohydrolase (3.6.1.3.)

Comme nous l'avons rappelé en commençant l'étude de la créatine-kinase, l'ATP-ase est un maillon indispensable dans la chaîne des facteurs produisant l'énergie nécessaire à la contraction musculaire. Elle catalyse la réaction suivante :



Son étude a été pratiquée dans le thymus de veau, dans les cellules duquel l'activité de l'enzyme serait 11 fois plus intense dans le cytoplasme que dans le noyau (41). Sa cinétique, son comportement vis-à-vis de sa propre concentration et de celle du substrat, sa réaction aux pH, à la température et à la présence d'ions métalliques et de molécules organiques, sont déjà très connus (18, 30 et 42). Son étude a également porté sur des noyaux cellulaires " jeunes ", c'est-à-dire provenant de thymus prélevés sur des rats dans les 20 secondes suivant la mort de l'animal, et sur des noyaux " âgés " (thymectomies faites au moins 10 minutes après la mort), et l'on a mesuré la quantité de phosphate inorganique libérée par de telles préparations, après incubation avec de l'A. T. P. dans des conditions bien déterminées (28).

D'autre part, certaines radiations ont été utilisées comme effecteurs physiques, par exemple : des souris vivantes ont reçu 200 R de rayons X, puis on les a thymectomisées au moins 10 minutes après les avoir sacrifiées, ce qui a permis de préparer des noyaux cellulaires " âgés " dont on a mesuré l'activité ATP-ase : elle avait peu varié par rapport à celle des témoins (29). Des doses de 50 R de rayons X appliquées in vivo à des rats, n'amènent pas de changement notable dans l'aptitude des préparations thymiques à hydrolyser l'A. T. P., mais 400 R l'augmentent vivement dès la 3ème heure, le maximum étant atteint vers la 72ème

heure, le retour vers la normale s'effectuant en plusieurs jours (17). 800 R de rayons γ appliqués à des rats, ne provoquent pas de changement important dans l'action de l'ATP-ase des homogénats thymiques (44). Des souris ont reçu sur tout le corps, une dose de 400 R de rayons γ provenant d'une source au Co^{60} , puis, après thymectomie, on pratique des coupes de cette glande et on les colore ; par comparaison avec des animaux non irradiés, on constate les altérations de l'enzyme, puis son retour à la normale après 7 à 9 jours de régénération thymique (40). On a étudié, en outre, l'action surajoutée de certains effecteurs (cystéine, mercaptoéthyl-amine, par exemple) sur des rats soumis à une irradiation ultérieure ; ces produits affaiblissent l'augmentation de l'activité ATP-ase du thymus, et l'étude de la mortalité montre que la capacité protectrice de chaque effecteur chimique coïncide avec son pouvoir d'affaiblissement de l'enzyme (32).

A - Mode opératoire -

Notre propre expérimentation a été faite en appliquant la méthode de PERRY (31) dont voici le principe : après arrêt de l'action enzymatique par l'acide trichloracétique, on dose photolorimétriquement le phosphate inorganique libéré en quantités d'autant plus importantes que l'enzyme a été plus active. On utilise les réactifs suivants :

- solution d'adénosine triphosphate 0,05 M (soit 3,1 mg de P-7 minutes par ml), à pH = 6,8. Nous utilisons le sel disodique fourni par Boehringer (Mannheim). Cette solution est stable plusieurs mois à - 15° C.
- tampon glycolle-soude 0,2 M, de pH = 9,1 à 25° C.

solution A : solution de glycolle 0,2 M

" B : solution de soude 0,2 M exempte de phosphates.

On mélange { solution A 50 ml
 { solution B 10,2 ml

et on complète à 200 ml avec de l'eau distillée ; on ajuste le pH à 9,1

- solution de chlorure de calcium 0,1 M
- solution d'acide trichloracétique à 15 %
- solution de molybdate d'ammonium :

molybdate d'ammonium	5 g
acide sulfurique concentré	14,7 g
eau distillée	100 ml

Il est commode de pulvériser le molybdate au mortier, d'ajouter une partie de l'eau ce qui provoque une dissolution rapide, puis progressivement, l'acide sulfurique; après homogénéisation et refroidissement, on verse cette solution dans un ballon jaugé, et on complète à 100 avec l'eau de rinçage du mortier.

- réactif de Fiske et Subbarow :

acide l-amino-2-naphtol-4-sulfonique	0,2 g
métabisulfite de sodium	12 g
sulfite anhydre de sodium	1,2 g
eau distillée q.s.p.....	100 ml

Pour ce réactif également, il est avantageux de pulvériser ensemble les produits solides dans un mortier, puis d'ajouter une partie de l'eau en continuant le travail au pilon ; on termine en versant le tout dans un ballon jaugé, que l'on complète à 100 avec l'eau de rinçage du mortier.

- Enfin, nous avons préparé une solution aqueuse de phosphate mono-potassique à 0,218 g/litre, pour la gamme-étalon.

La composition de cette dernière est la suivante :

tubes n°	0	1	2	9	10
$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$	0	0,1 ml	0,2	0,9	1
H_2O	1ml	0,9	0,8	0,1	0
Molybdate d'ammonium}	1	1	1	1	1
H_2O	3	3	3	3	3
Fiske et Subbarow }	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
H_2O	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5

Sachant que l'on met à incuber, dans les expériences proprement dites, 15 μM d'ATP, il est facile d'établir la correspondance entre chacun des tubes ci-dessus et le nombre de μM d'ATP hydrolysées :

tubes n°	0	1	2	9	10
n. de μM d'ATP hydrolysées	0	1,5	3,0	13,5	15

Les tubes de la gamme sont passés au photocolorimètre, à 560 $m\mu$, et l'on trace une courbe graduée en μM d'ATP hydrolysées ; en y rapportant l'absorption due à chaque tube d'expérience, on lit immédiatement le nombre de μM d'ATP hydrolysées.

Pour les essais enzymatiques, on verse dans des tubes à hémolyse de 8 ml environ :

tampon	1 ml
solution de chlorure de calcium	0,2
suspension thymique au 1/100	0,5
solution d'ATP	0,3

Dans un autre tube, on remplace la suspension thymique par un égal volume d'eau distillée, pour déterminer la quantité de phosphore libérée spontanément.

Enfin, un autre tube recevra les mêmes réactifs que ceux destinés à l'essai enzymatique lui-même, mais on y adjoint 1 ml d'acide trichloracétique pour précipiter la protéine porteuse d'activité ATP-asiqe, ce qui permettra de régler le zéro du photocolorimètre pour les tubes à enzyme.

Tous les tubes ci-dessus sont mis à incuber à 37° pendant 30 minutes, tandis qu'une autre série identique incube également à 37°, mais pendant 60 minutes.

Un dernier tube non incubé, a la même composition que le tube d'activité spontanée, et sert à régler le zéro du photocolorimètre pour passer ce dernier tube.

A la fin de l'incubation, on sort les tubes du bain-marie et on y ajoute 1 ml d'acide trichloracétique, sauf dans le tube " zéro " de la réaction enzymatique, où il a déjà été versé. On agite, on centrifuge 5 minutes à 4000 tours environ, puis, dans une nouvelle série de tubes de 15 ml environ et portant les mêmes numéros que ci-dessus, on verse :

surnageant	0,33 ml
molybdate d'ammonium	1
eau distillée	3
réactif de Fiske et Subbarow	0,50
eau distillée	5,17

On agite, on laisse la coloration bleue se développer 5 minutes, et on passe au photocolorimètre.

B - Résultats -

Ainsi qu'on peut en juger d'après les tableaux V a et V b, et les courbes n° 5, ils présentent un contraste très accusé avec ceux de la catalase pour laquelle ils s'éloignent peu de leur valeur initiale, et avec ceux de la créatine-phosphokinase pour laquelle nous avons obtenu une courbe très tourmentée. Avec l'ATP-ase, le mâle présente une très légère baisse d'activité du 5^{ème} au 10^{ème} jour (de 0,24 μ M d'ATP hydrolysées en 30 minutes par 1 mg de thymus, à 0,20 et de 0,43 à 0,35 μ M en 60 minutes), puis une ascension remarquable par sa continuité et son ampleur du 10^{ème} au 75^{ème} jour (de 0,20 μ M à 1,27 en 30 minutes, et de 0,35 μ M à 1,87 en 60 minutes); la 3^{ème} étape, du 75^{ème} au

90ème jour, est une baisse franche, ramenant les quantités d'ATP hydrolysées de $1,27 \mu\text{M}$ à $1,08$ en 30 minutes, et de $1,87 \mu\text{M}$ à $1,64$ en 60 minutes. Chez la femelle, on ne constate pas une ascension aussi spectaculaire que chez le mâle, mais la courbe ne présente pas le léger déclin constaté chez le jeune mâle et elle offre ensuite 2 sommets : le premier se situe à 45 jours, après une ascension continue depuis la naissance, faisant passer les quantités d'ATP hydrolysées de $0,24 \mu\text{M}$ à $0,62$ en 30 minutes d'incubation, et de $0,43$ à $1,26$ en 60 minutes ; puis a lieu une baisse entre le 45ème et le 60ème jour, de $0,62 \mu\text{M}$ à $0,58$ en 30 minutes, et de $1,26$ à $0,91$ en 60 minutes ; l'ascension reprend du 60ème au 75ème jour, aboutissant à $0,79$ et à $1,37 \mu\text{M}$ respectivement en 30 et en 60 minutes ; enfin, la courbe des femelles devient parallèle à celle des mâles du 75ème au 90ème jour avec, pour activités finales $0,50$ et $1 \mu\text{M}$ en 30 et en 60 minutes d'incubation.

La légère et courte baisse d'activité enregistrée chez le mâle, entre le 5ème et le 10ème jour, est en opposition avec la hausse de l'activité créatine-kinasique aux mêmes âges, opposition qui va nous amener à en rechercher expérimentalement l'explication, d'autant plus que chez la femelle, l'activité ATP-asi-que augmente pendant le même laps de temps.

Ensuite, chez le mâle, la capacité de libérer de l'énergie croît très fortement jusqu'au 3ème mois qui serait peut-être l'âge de la " pleine forme " physique. La femelle présente des hauts et des bas dans son potentiel d'énergie qui ne sont peut-être pas sans relation avec les événements glandulaires de son organisme.

Il convient de noter que les estimations ci-dessus ne peuvent être imputées en toute rigueur à l'ATP-ase, qu'à condition d'y introduire les corrections nécessitées par l'existence, dans une préparation tissulaire brute, d'autres enzymes de variétés voisines, d'apyrases et de systèmes simulant l'activité ATP-asi-que.

Quant à la localisation intra-thymique de l'ATP-ase, elle elle apparait nettement sur les coupes dont nous joignons ici quelques clichés photographiques : une réaction de fond est assez forte sur les zones médullaires, et une très forte réaction se montre sur le réseau vasculaire médullaire et cortical des lobules, de thymus de souris âgées de 22 jours.

L'activité enzymatique a été estimée dans le noyau du thymus de rat (28) ; des études histo-chimiques l'ont détectée dans l'endothélium des vaisseaux sanguins et, chez l'embryon de souris, dans les artères inter-lobulaires et médullaires, dans les capillaires artériels et dans quelques capillaires corticaux arqués (36 et 37) ; en outre, des études ont été publiées (24) précisant

TABEAU Va : ADENOSINE-TRIPHOSPHATASE
(Moyennes de nos résultats expérimentaux)

INCUBATION : 30 min.

Ages (jours)	Sexe et nombre des animaux	La prise d'essai (5mg de thymus)				μ M d'ATP hydrolysées par 1mg de thymus			entier	le pds de thymus dans 100 g corp.		l'activité spontanée
		M	σ	M	%	M	%	M		M	%	
* 5	mâles 20	1,18	0,11	0,24	- 17	3,17	+ 90	77,30				M 0
10	6	1,02	0,11	0,20	+ 54	6,02	+ 597	73,85			- 4	0
20	5	1,96	0,27	0,37	+ 108	22,11	+ 1099	185,26			+ 140	0
30	6	2,52	0,30	0,50	+ 208	38,01	+ 1167	144,73			+ 87	0
45	7	3,72	0,61	0,74	+ 250	40,17	+ 706	108,31			+ 40	0
60	6	4,22	0,56	0,84	+ 429	25,55	+ 417	67,83			- 12	2
75	5	6,33	0,67	1,27	+ 350	16,39		44,48			- 42	1,5
90	5	5,40	0,59	1,08		32,80		78,15			+ 1	0
10	femelles 5	2,03	0,26	0,41	+ 71	17,93	+ 465	210,31			+ 172	0
20	5	2,25	0,24	0,45	+ 87	25,68	+ 710	213,38			+ 176	0
30	7	2,44	0,21	0,49	+ 104	51,19	+ 1514	215,33			+ 179	0
45	9	3,08	0,37	0,62	+ 158	49,35	+ 1457	184,05			+ 138	0
60	6	2,92	0,54	0,58	+ 142	28,70	+ 805	102,22			+ 32	0
75	5	3,96	0,48	0,79	+ 229	43,31	+ 1266	138,86			+ 80,0	0
90	5	2,52	0,39	0,50	+ 108	42,62	+ 1244	122,50			+ 58	0

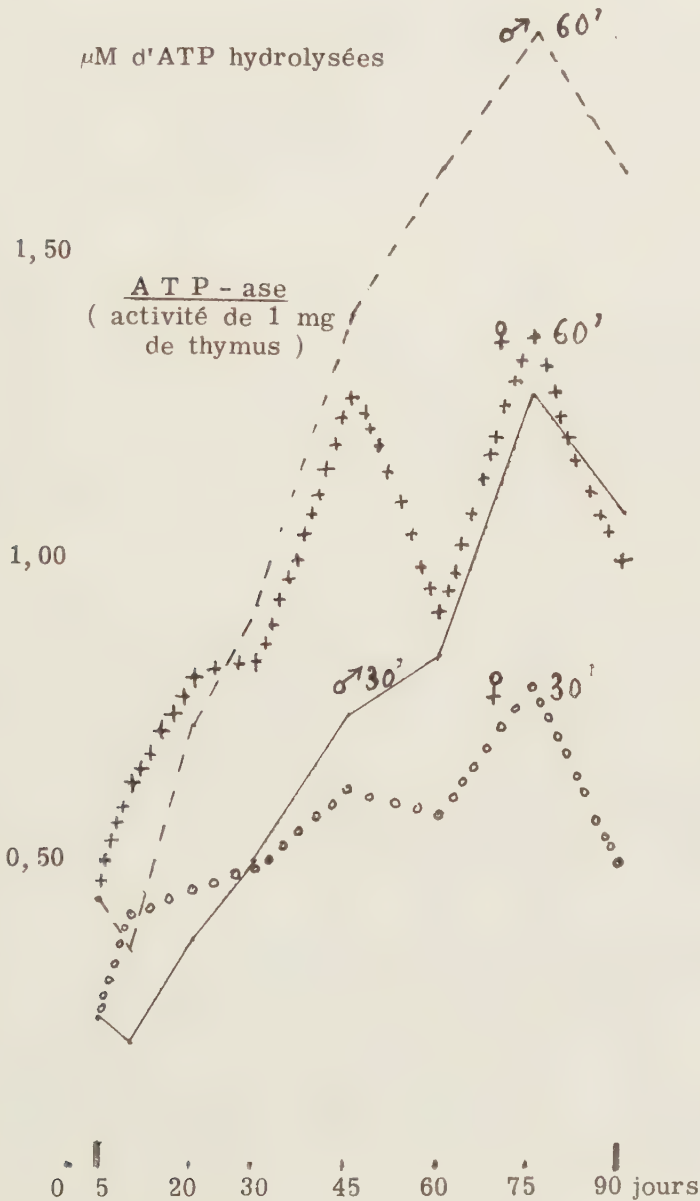
* Pour le seul âge de 5 jours, nous avons expérimenté sur des mélanges d'organes de mâles et de femelles.

TABLEAU V b : ADENOSINE-TRIPHOSPHATASE
(moyennes de nos résultats expérimentaux)
Incubation : 60 minutes

Ages (jours)	Sexe et Nbre des animaux	μM d'ATP hydrolysées par 1 mg de thymus						Le thymus entier		Le poids de thymus dans 100 g corp.		l'activité spontanée
		La prise d'essai (5 mg de thymus)		%		M		%		M		
	mâles	M	σ	M	%	M	%	M	%	M	%	M
★ 5	20	2,14	0,26	0,43		5,64		138,54		0		0
10	6	1,75	0,23	0,35	- 19	10,26	+ 82	123,09	- 11	0		0
20	5	3,66	0,45	0,72	+ 67	43,11	+664	360,41	+160	0,5		0,5
30	6	4,61	0,88	0,92	+114	70,26	+1146	264,86	+ 91	0		0
45	7	7,01	1,47	1,40	+226	75,24	+1234	202,83	+ 46	0		0
60	6	8,22	1,47	1,64	+281	49,55	+779	131,48	- 5	3		3
75	5	9,33	1,49	1,87	+335	24,09	+327	65,18	- 53	2		2
90	5	8,22	1,20	1,64	+281	50,23	+791	119,36	- 14	0		0
	femelles											
10	5	3,15	0,41	0,63	+ 47	27,42	+ 386	323,22	+ 133	0		0
20	5	4,01	0,41	0,80	+ 86	45,78	+ 712	379,85	+ 174	0		0
30	7	4,17	0,92	0,83	+ 93	86,73	+1438	365,05	+ 163	1		1
45	9	6,28	1,04	1,26	+193	99,84	+1670	373,35	+ 170	0		0
60	6	4,55	0,62	0,91	+112	44,55	+ 690	159,00	+ 15	0		0
75	5	6,85	0,97	1,37	+219	74,38	+1219	239,23	+ 73	0		0
90	5	5,01	0,88	1,00	+133	84,42	+1397	242,57	+ 75	0		0

* Pour le seul âge de 5 jours, nous avons expérimenté sur des mélanges d'organes de mâles et de femelles.

la distribution cellulaire de l'ATP-ase dans le thymus, où l'activité est soit considérable (cellules réticulaires phagocytiques PAS+), soit modérée ou même nulle (cellules épithéliales médullaires) ; pour certains, l'enzyme semble localisée dans la membrane nucléaire (6).



Courbes n° 5 - μM d'ATP hydrolysées

C H A P I T R E V I I I

LEUCINE-AMINO-PEPTIDASE

(L-leucyl-peptide hydrolase) (3.4.1.1.)

On se rappelle que nous travaillons sur des souris âgées de 5 à 90 jours, c'est-à-dire sur des animaux pris peu après leur naissance, ayant ensuite à édifier leurs propres tissus, puis, parvenus à l'état adulte, à assurer leur entretien. Dans ces conditions, il a paru intéressant d'étudier le comportement de la L.A.P., exopeptidase s'attaquant à des substrats polypeptidiques de masse moléculaire relativement modeste, dont elle coupe les liaisons terminales pour fournir des molécules de dimensions plus petites encore, et susceptibles d'être utilisées par l'organisme.

A - M o d e o p é r a t o i r e -

Nous avons utilisé, comme précédemment sur le Thymus lyophilisé, la méthode de GOLDBARG et RUTENBURG (19) dont voici le principe : la suspension tissulaire à étudier est mise à incuber avec une solution de L-leucyl- β -naphtylamide qui subit l'hydrolyse en libérant de la leucine et de la β -naphtylamine; celle-ci formée en quantité proportionnelle à l'activité enzymatique, est diazotée avec la N-naphtyl-éthylène-diamine, formant une coloration bleue dont l'intensité est mesurée au photocolorimètre.

Les réactifs utilisés sont :

- un tampon phosphate 0,2 M composé de :
 - 40 ml de $\text{PO}_4 \text{H}_2 \text{K}$ sec à 27,4 g/l
 - 60 ml de $\text{PO}_4 \text{H Na}_2$, 12 H_2O à 71,6 g/l
 - le pH doit être ajusté à 7,0.

solution de L-leucyl- β -naphtylamide (chlorhydrate) 0,0003425 M (substrat); faire d'abord une solution à 0,2 mg/ml d'eau distillée ; puis mélanger à volume égal dans le tampon phosphate; conserver à - 25° C.

- solution de $\text{NO}_2 \text{ Na}$ à 0,1 p.100 dans l'eau distillée glacée, préparée chaque jour.
- solution de sulfamate d'ammonium à 0,5 p. 100.
- solution de N-naphtyl-éthylène-diamine (dichlorhydrate) à 0,05 p. 100 en solution dans l'éthanol à 95°; à remplacer si elle tend à se colorer.
- acide trichloracétique aqueux à 15 p. 100.
- pour faire la gamme-étalon : une solution de β -naphtyl-amine 0,0003425 M; préparer d'abord une solution mère composée de 49,046 mg de produit dissous dans 50 ml d'éthanol et portée à 100 ml avec de l'eau distillée; au moment de l'emploi, diluer une partie de cette solution au 1/10.

La gamme-étalon est ainsi composée :

tubes n ^{os}	: 0	1	2	9	10
$\mu \text{ M}$ de β -naphtylamine	0	0,0342	0,0684	0,308	0,342
solution de β -naphtylamine }	0	0,1 ml	0,2	0,9	1,0
eau distillée :	1	0,9	0,8	0,1	0
tampon :	1	1	1	1	1
acide trichloracétique }	1	1	1	1	1

Dans chaque tube, on prélève 1ml du mélange que l'on verse dans une seconde série de tubes de même numérotation, et on y ajoute : 1ml de solution de nitrite de sodium, agitation et repos de 3 minutes;

1 ml de sulfamate d'ammonium, agitation et repos de 2 minutes;

2 ml de N-naphtyl-éthylène-diamine, agitation et repos de 30 minutes à l'obscurité pour le développement de la couleur bleue. Puis chaque tube est passé au photocolormètre réglé sur 560 m μ , et lu en densité optique. Les lectures ainsi faites sont reportées sur une feuille de papier millimétrique, ce qui donne une droite à laquelle on rapportera les lectures ultérieures d'essais enzymatiques et qui donnera directement l'activité en μM de substrat détruites par la prise d'essai thymique. Les essais enzymatiques proprement dits sont conduits de la façon suivante.

Des tubes à hémolyse reçoivent :

homogénat thymique aqueux au 1/200..... 1 ml
solution de substrat..... 1 ml

Un tube destiné à la mesure de l'hydrolyse spontanée, reçoit 1ml

d'eau distillée à la place de l'homogénat, et 1 ml de substrat. Un dernier tube, servant à faire le zéro du photocolorimètre, à la même composition que les tubes enzymatiques, mais il reçoit, en plus, 1 ml d'acide trichloracétique pour empêcher le démarrage de l'action de la L.A.P.

Tous ces tubes sont mis à incuber à 37° pendant 15 minutes; une seconde série incube 30 minutes. En fin d'incubation, on ajoute rapidement 1 ml d'acide trichloracétique à tous les tubes, sauf évidemment à ceux destinés au zéro du photocolorimètre, qui ont déjà reçu cet acide. On agite et l'on centrifuge 5 minutes à 4000 tours environ. Dans d'autres tubes préparés à l'avance et de même numérotation que les précédents, on verse :

surnageant ci-dessus..... 1 ml

solution de nitrite de sodium..... 1 ml

On agite très soigneusement, on laisse reposer exactement 3 minutes, puis on ajoute :

sulfamate d'ammonium..... 1 ml

nouvelle agitation, puis repos de 2 minutes, et on termine par l'addition de :

N-naphtyl-éthylène-diamine..... 2 ml

dernière agitation, repos de 30 minutes à l'obscurité, et l'on passe chaque tube au photocolorimètre à 560 m, réglé en densité optique.

B - RESULTATS :

Ils sont rassemblés dans les tableaux VIa et VIb, et concrétisés par les courbes n° 6, d'un aspect très simple, paraissant représenter un type d'évolution différent de ceux que nous avons présentés plus haut.

En 15 minutes d'incubation, il y a hydrolyse de 0,019 μ M de substrat par 1 mg de thymus de 5 jours, mâle ou femelle; chez le mâle, cette quantité reste sensiblement inchangée jusqu'à 30 jours; puis une augmentation très lente apparaît, qui conduit la courbe à 0,023 μ M à 60 jours et c'est alors que le seul clocher du graphique apparaît, avec son sommet de 0,030 μ M à 75 jours, suivi aussitôt d'une chute symétrique à la montée. Chez la femelle, l'ascension est plus précoce : elle commence à 20 jours pour atteindre 0,023 μ M à 30 jours; elle affecte ensuite la forme d'un plateau peu ascendant, touchant son sommet vers 60-75 jours, avec 0,027 à 0,029 μ M de substrat hydrolysées; puis on enregistre une descente parallèle à celle du mâle, aboutissant à 0,020 μ M à 90 jours.

En 30 minutes d'incubation, le " relief " de la courbe est nettement plus accusé; le mâle passe de 0,034 μ M le 5^e jour à 0,043 le 60^e jour, puis s'élève vivement à 0,059 μ M le 75^e jour et redescend immédiatement à 0,042 μ M le 90^e jour. La courbe de la femelle est plus capricieuse : elle s'élève d'abord de 0,034 à 0,039 μ M entre les 5^e et 10^e jours, puis elle descend à 0,033 au

TABLEAU VI a : LEUCINE-AMINO-PEPTIDASE
(Moyennes de nos résultats expérimentaux)

INCUBATION : 15 minutes

Ages (jours)	Sexe et nombre des animaux	La prise d'essai (5 mg de thymus)				μ M de L-leucyl- β -naphthylamide hydrolysées par 1 mg de thymus			le thymus entier			Le poids de thymus dans 100 g corp.		l'activité spontanée
		M	σ	M	%	M	%	M	%	M	%	M	%	
* 5 10 20 30 45 60 75 90	mâles													
	20	0,097	0,019	0,019		0,253		5,63						0
	5	0,089	0,006	0,018	- 5	0,680	+ 169	7,00	+ 24					0
	7	0,094	0,006	0,019	0	1,340	+ 430	9,99	+ 77					0
	6	0,097	0,008	0,019	0	1,756	+ 594	6,61	+ 35					0
	6	0,104	0,007	0,021	+ 10	1,341	+ 430	4,27	- 24					0
	7	0,114	0,007	0,023	+ 21	0,869	+ 243	2,11	- 63					0
	6	0,150	0,009	0,030	+ 58	0,615	+ 143	1,56	- 72					0
	6	0,114	0,005	0,023	+ 21	0,642	+ 154	1,45	- 74					0
10 20 30 45 60 75 90	femelles													
	7	0,100	0,007	0,020	+ 5	0,544	+ 115	7,34	+ 30					0
	7	0,089	0,008	0,018	- 5	1,204	+ 376	8,78	+ 56					0
	6	0,117	0,005	0,023	+ 21	1,922	+ 660	8,00	+ 42					0
	6	0,125	0,014	0,025	+ 32	1,904	+ 653	7,20	+ 28					0
	5	0,136	0,004	0,027	+ 42	1,605	+ 534	5,27	- 6					0
	6	0,146	0,014	0,028	+ 47	1,028	+ 306	3,20	- 43					0
	5	0,100	0,006	0,020	+ 5	1,234	+ 388	4,05	- 28					0

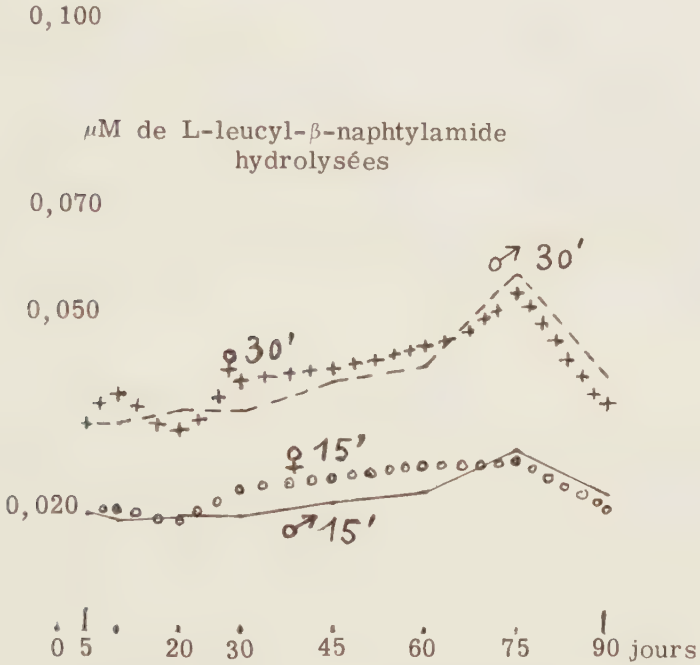
* Pour le seul âge de 5 jours, nous avons expérimenté sur des mélanges d'organes de mâles et de femelles.

TABLEAU VI b : LEUCINE-AMINO-PEPTIDASE
(Moyennes de nos résultats expérimentaux)
Incubation : 30 minutes

Ages (jours)	Sexe et Nbre des animaux	μ M de L-leucyl- β -naphthylamide hydrolysés par 1 mg de thymus						le thymus entier		le poids de thymus ds 100 g corp.		l'activité spontanée
		M	σ	M	%	M	%	M	%	M	%	
* 5 10 20 30 45 60 75 90	mâles											
	20	0,172	0,027	0,034		0,45		10,05				0
	5	0,171	0,019	0,034	0	1,30	+ 189	13,40	+ 33			0
	7	0,180	0,016	0,036	+ 6	2,57	+ 471	19,21	+ 91			0
	6	0,179	0,008	0,036	+ 6	3,33	+ 640	12,25	+ 22			0
	6	0,207	0,022	0,041	+ 20	2,66	+ 491	8,48	- 16			0
	7	0,220	0,008	0,044	+ 29	1,68	+ 273	4,09	- 59			0
	6	0,293	0,029	0,059	+ 73	1,17	+ 160	2,99	- 70			0
	6	0,210	0,021	0,042	+ 24	1,19	+ 164	2,68	- 73			0
femelles												
	7	0,197	0,016	0,039	+ 15	1,07	+ 138	14,55	+ 45			0
	20	0,166	0,026	0,033	- 3	2,24	+ 398	16,39	+ 63			0
	30	0,208	0,016	0,041	+ 20	3,25	+ 622	13,64	+ 36			0
	45	0,216	0,008	0,043	+ 26	3,29	+ 631	10,99	+ 9			0
	60	0,236	0,004	0,047	+ 38	2,78	+ 518	9,13	- 9			0
	75	0,283	0,026	0,056	+ 65	2,00	+ 345	6,21	- 38			0
	5	0,192	0,014	0,038	+ 12	2,35	+ 422	7,73	- 23			0

* Pour le seul âge de 5 jours, nous avons expérimenté sur des mélanges d'organes de mâles et de femelles.

au 20ème jour ; ensuite elle monte brusquement à $0,041 \mu\text{M}$ le 30ème jour ; elle s'élève plus progressivement jusqu'à $0,056 \mu\text{M}$ à 75 jours, et descend parallèlement à la courbe des mâles, jusqu'à $0,038 \mu\text{M}$ à 90 jours.



Courbes n° 6 - Leucine-Amino-Peptidase
(Activité de 1 mg de thymus)

Il est curieux de constater que la L.A.P. présente son activité maxima à 75 jours, c'est-à-dire au même âge que l'A. T.P.-ase, bien qu'elle l'atteigne par une " pente " beaucoup plus modérée que cette dernière. S'il y a un maximum du potentiel de libération d'énergie à cet âge, ne faut-il pas qu'il lui corresponde un maximum dans le métabolisme des protéines ? Ceci pourra nous amener à poursuivre l'étude parallèle des deux enzymes sur une période beaucoup plus longue de la vie, une année entière par exemple, ce qui éclairera peut-être plus nettement le comportement de ces activités diastasiques.

L'étude histochimique de la leucine-amino-peptidase thy-mique nous a révélé une réaction d'intensité moyenne strictement délimitée, sur les zones lobulaires médullaires ; à l'intérieur de ces zones médullaires, la réaction s'accroît sur les éléments

de la trame au niveau des structures granulaires polymorphes. D'autres auteurs (22) l'ont localisée dans une zone exigüe sur la lisière extérieure des couches corticales et dans la partie médullaire, avec absence de l'enzyme dans la portion interne de la zone corticale. Notons que certains chercheurs (36, 37, 38), travaillant également sur le Thymus de Souris, trouvent que l'épithélium cystic est négatif, ainsi que les rudiments thymiques d'embryons de 14 à 19 jours et plus, ainsi que chez la Souris post-natale, mais que les restes de parathyroïdes éventuellement présents sur la coupe sont fortement réactifs (39). VAN DYKE (45) a étudié la plus ou moins grande fréquence de parathyroïdes aberrantes dans le thymus. Nous n'en avons, quant à nous, jamais trouvées. GREEN et coll. (20) ont constaté que la L.A.P., chez l'homme normal, est environ deux fois plus active dans le Thymus que dans l'utérus, mais trois fois moins que dans le foie et dans la rate, et quatre fois moins que dans le cerveau, pour ne citer que quelques exemples.

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES

Du point de vue bibliographique :

les connaissances actuelles de l'enzymologie du Thymus intéressent surtout les Estérases, les Peptidases et les Polyphosphatases. Des études assez importantes ont été faites sur certaines Transférases et Oxydo-réductases. Les Lyases et Synthéases, et les Isomérases et Racémases thymiques n'ont encore à peu près rien dévoilé de leurs éventuelles activités. Par contre, de nombreux systèmes enzymatiques et plusieurs séquences métaboliques sont déjà partiellement connus. Les études ont porté sur quelques animaux de laboratoire (Rat, Souris) ou d'élevage (Porc, Lapin); mais très peu de cas en clinique humaine ont été publiés. On a cependant décrit un certain nombre de modifications enzymatiques au cours de quelques états physiologiques (sujets immatures ou adultes), pathologiques (tumeurs) et expérimentaux (rayons X, jeûne, traitements par des produits organiques et hormonaux) dans lesquels se trouvent concernées les protéines constitutives des tissus, ce qui justifie essentiellement, dans notre esprit, la partie expérimentale.

Du point de vue expérimental

les recherches exposées ci-dessus et pratiquées sur des souris normales âgées de 5 à 90 jours, avaient pour but d'apporter quelques précisions sur l'évolution puis l'involution du Thymus du point de vue pondéral, ainsi que dans le même temps, sur le comportement naturel de 4 activités enzymatiques de cette glande, en fonction de l'âge de l'animal.

I - Pendant que le poids corporel augmente de 10 fois environ, le poids initial du Thymus (15 mg) se multiplie par 5, puis revient au double de sa valeur de départ chez le mâle, et au quadruple chez la femelle sansjamais s'annuler pendant la période de vie considérée (de 5 à 90 jours), le tout sur 379 animaux (courbes p. 66).

II - La présence d'une certaine quantité de sang résiduel dans les vaisseaux du Thymus après prélèvement, malgré les précautions prises, ne suffit pas à rendre compte de la nature et de l'intensité des activités enzymatiques de l'homogénat thymique. Le tissu glandulaire lui-même est en cause, ce qu'a affirmé l'étude histo-chimique chaque fois qu'elle a été possible (A.T.P.-ase et L.A.P.).

III - Ainsi que le lecteur peut s'en rendre compte à l'examen des courbes des pages 77, 84, 95 et 101, l'activité catalasique conserve à peu près la même valeur, aussi bien chez le mâle que chez la femelle ; la créatine-kinase est, au contraire, d'une intensité très irrégulière : sa courbe semble esquisser un cycle dont la signification reste encore à déterminer ; l'ATP-ase présente une progression spectaculaire chez le mâle, moindre et plus irrégulière chez la femelle ; la leucine-amino-peptidase dessine un clocher à 75 jours, comme les deux précédentes enzymes, mais moins marqué que celui de l'ATP-ase. On se trouve donc en présence de 4 types différents d'évolution, entre lesquels il sera intéressant de savoir par la suite si toutes les activités enzymatiques prospectées peuvent se répartir.

IV - En ce qui concerne la catalase, l'âge du sujet semble ne pas avoir de répercussion probante. En revanche, l'absence d'horizontalité des trois autres courbes met en évidence une action très nette de ce facteur, mais, nous le répétons, avec des incidences très diverses.

V - Sans préjuger encore des corrélations à établir entre, d'une part, les modes de comportement biochimique différent chez le Souriceau, chez la Souris; arrivant à la puberté, et finalement chez l'animal adulte, et d'autre part, les activités enzymatiques prospectées, nous pensons que la poursuite de cette étude nous permettra peut-être de mettre mieux en lumière la participation du Thymus à l'évolution générale de l'organisme.

Vu,

Le 30 Novembre 1968

Le Président du Jury

G. DASTUGUE

Vu et Permis d'Imprimer

N° Ph 8/68

Le 3 Décembre 1968

Le Doyen

G. MEYNIEL

BIBLIOGRAPHIE DE LA PARTIE ANALYTIQUE

- 1 - ABRAMS (R.) and BENTLEY (M.) - Biosynthesis of nucleic acid purines. III. Guanosine-5'-phosphate formation from xanthosine-5-phosphate and L-glutamine.
Arch. Biochem. Biophys., 1959, 79, 91-110.
- 2 - ACKERMAN (G. A.) and KNOUFF (R. A.) - Testosterone suppression of mesenchymal alkaline phosphatase activity and lympho-epithelial nodule formation in the bursa of Fabricius in the embryonic chick.
Anat. Rec., 1963, 146, 23-28.
- 3 - ACKERMAN (G. A.) and KNOUFF (R. A.) - Lymphocyte formation in the thymus of the embryonic chick.
Anat. Rec., 1964, 149, 191-216.
- 4 - ALDRIDGE (W. G.), HEMPELMANN (L. H.) and EMMEL (V. M.) - Histochemical study of deoxyribonuclease II (DN-ase II) in lymphoid tissues of normal and irradiated rats.
Radiation research, 1960, 12, 49-60.
- 5 - ALLFREY (V. G.) - Amino-acid activation and transfer to ribonucleic acids in the cell nucleus.
The Cell Nucleus. Proc. Meeting Cambridge, Engl. 1959 (Publié en 1960, ed. Butterworths, Londres), p. 170-175.
- 6 - ALLFREY (V.) and MIRSKY (A. E.) - Some aspects of the desoxyribonuclease activities of animal tissues.
J. Gen. Physiol., 1952, 36, 227-241.
- 7 - ALLFREY (V. G.), MIRSKY (A. E.) and OSAWA (S.) - Protein synthesis in isolated cell nuclei.
Nature, 1955, 176, 1042-1049.
- 8 - ALLFREY (V. G.), MIRSKY (A. E.) and OSAWA (S.) - Protein synthesis in isolated cell nuclei.
J. Gen. Physiol., 1957, 40, 451-490.
- 9 - ALLFREY (V. G.), STERN (H.), MIRSKY (A. E.) and SAETREN (H.) - The isolation of cell nuclei in non-aqueous media.
J. Gen. Physiol., 1951-52, 35, 529-557.

- 10 - AMBROSI (M.), RONCALLI (R.) e VALDINA (G.) - Attività istaminasica di alcuni organi di bovini sani.
Atti. Soc. Ital. Sci. vet. 1954, 8, 412-414.
- 11 - APPASWAMY RAO (M.) - Alkaline phosphatase and periodic acid-Schiff reactions in the thymus of Calotes versicolor.
Proc. Nat. Inst. Sci., India., 1954, 20, 503-507.
- 12 - ARAKI (T.) - Über enzymatische Zersetzung der Nucleinsäure.
Z. Physiol. Chem., 1903, 38, 84-97.
- 13 - AUGUSTINSSON (K.B.) - Cholinesterases. A study in comparative enzymology.
Acta Physiol. Scand., 1948, 15, suppl. 52 (182 p.).
- 14 - BALLADE (Ch.), OGIER (R.), FRAUX (J.), BASTIDE (P.) et DASTUGUE (G.) - Activités enzymatiques au niveau du thymus lyophilisé d'agneau.
C.R.Soc.Biol., 1964, 158, 536-539.
- 15 - BANKOWSKI (Z.) et VORBRODT (A.) - Recherches histo-chimiques sur l'activité des enzymes hydrolysant l'acide adénosinotriphosphorique, l'acide adénosinomonophosphorique et le glicérophosphate dans les noyaux cellulaires du foie et du Thymus du rat.
Ann. Histochem., 1962, 7(3), 31-42.
- 16 - BARKA (T.), SCHAFFNER (F.) and POPPER (H.) - Acid phosphatase and the reticuloendothelial system.
Lab.Invest., 1961, 10, 590-607.
- 17 - BARNETT (R.J.) - The distribution of esterolytic activity in the tissues of the albino rat as demonstrated with indoxyl acetate.
Anat. rec, 1952, 114, 577-599.
- 18 - BEAUVIEUX (Y.J.) - Apports expérimentaux à la physiologie du thymus. Exposé préliminaire.
La Presse Médicale, 1963, 71, 1367-1370.
- 19 - BEKKUM (D.W. van) - Phosphorylating activity of mitochondria after total body irradiation.
Radiobiology Symposium, Prod., Liège, août-sept. 1954, publié en 1955. Pages 201-209.
- 20 - BEKKUM (D.W. van) - Oxydative phosphorylation in some radiosensitive tissues after irradiation.
Ciba Symp. Ionizing radiations and Cell Metab., 1956, p. 77-91.

- 21 - BEKKUM (D.W. van) - The effect of X-rays on phosphorylations in vivo.
Biochim. Biophys. Acta , 1957, 25, 487-492.
- 22 - BEKKUM (D.W. van) and VOS (C.) - The effect of X-rays on the oxidative phosphorylation of mitochondria in relation to nuclear damage.
Brit. J. Exptl. Pathol., 1955, 36, 432-438.
- 23 - BELLAMY (D.) - Observations on cortisol-induce involution of the thymus.
J.of. Endrocr., 1964, 30 (2), V - VI.
- 24 - BERNARDI (G.) - Chromatographic purification of acid ribonuclease from calf thymus.
Biochim. Biophys. Acta , 1961, 53, 216-217.
- 25 - BERNARDI (G.) et SADRON (C.) - Kinetics of the enzymic degradation of deoxyribonucleic acid into sub-units.
Nature, 1961, 191, 809-810.
- 26 - BERTALANFFY (L. von) and PIROZYNSKI (W.J.) - Tissues respiration and body size.
Science, 1951, 113, 599-600.
- 27 - BETEL (I.) and KLOUWEN (H.M.) - Adenosine triphosphate synthesis in isolated rat-thymus nuclei.
Biochim. Biophys. Acta, 1963, 76, 327-329.
- 28 - BETEL (I.), KLOUWEN (H.M.) - Oxidative phosphorylation in isolated rat-thymus nuclei.
Biochim. Biophys. Acta, 1964, 85, 348-350.
- 29 - BIRMINGHAM (M.K.) and DESBARATS (M.L.) - Changes in oxygen uptake and peptidase activity of rat thymus during growth and after adrenalectomy.
Can. J. Med. Sci., 1952, 30, 494-502.
- 30 - BIRMINGHAM (M.K.) and GRAD (B.) - Peptidase activity in the thymus of a normal and a leukemic strain of mice during growth and aging.
Cancer Res., 1953, 14, 352-359.
- 31 - BIRMINGHAM (M.K.), GRAD (B.), PUTNAM (M.E.) and STERN (K.) - Peptidase activity in thymus glands of normal and leukemic mice during growth and aging.
Cancer Res., 1952, 12, 249.
- 32 - BISWAS (B.B.) and ABRAMS (R.) - Enzymatic incorporation of nucleoside triphosphate into nuclear ribonucleic acid.
Fed. Proc., 1961, 20, 362.

- 33 - BISWAS (B.B.) and ABRAMS (R.) - Incorporation of nucleoside triphosphates into ribonucleic acid with a particulate fraction of disrupted thymus nuclei.
Biochim. Biophys. Acta , 1962, 55, 827-836.
- 34 - BLAKLEY (R.L.) - Methylation of uracil deoxyriboside by soluble enzymes of thymus.
Biochim. Biophys. Acta , 1957, 24, 224.
- 35 - BLECHER (M.) and WHITE (A.) - In vitro effects of adrenal cortical steroids on transamination by cell suspensions of rat thymus and lymphosarcoma.
Endocrinol., 1958, 63, 65-74.
- 36 - BLECHER (M.) and WHITE (A.) - Effects of steroids on the metabolism of lymphoid tissue.
Recent Progr. Hormone Res., 1959, 15, 391-425.
- 37 - BOLLUM (F.J.) - DNA synthesis by enzymes from mammalian tissues.
Fed. Proc. 1958, 17, 193.
- 38 - BOLLUM (F.J.) - DNA synthesis by enzymes from mammalian tissues: calf thymus polymerase.
Fed. Proc., 1959, 18, 194.
- 39 - BOLLUM (F.J.) - Mammalian enzymes of desoxyribonucleic acid synthesis.
Ann. N-Y. Acad. Sci., 1959, 81, 792-793.
- 40 - BOLLUM (F.J.) - Thermal conversion of nonpriming deoxyribonucleic acid to primer.
J. Biol. Chem., 1959, 234, 2733-2734.
- 41 - BOLLUM (F.J.) - Deoxyribonucleic acid synthesis by mammalian enzymes : some observations on primers.
Cell. Nucleus, Proc. Meeting Cambridge, Eng. 1959
(publié en 1960, ed. Butterworths, Londres), pp. 60-65.
- 42 - BOLLUM (F.J.) - Primers for calf thymus polymerase.
Fed. Proc., 1960, 19, 305.
- 43 - BOLLUM (F.J.) - Calf thymus polymerase.
J. Biol. Chem., 1960, 235, 2399-2403.
- 44 - BOLLUM (F.J.) - Oligodeoxyribonucleotide primers for calf thymus polymerase.
J. Biol. Chem., 1960, 235, PC 18-PC 20.
- 45 - BOLLUM (F.J.) - Oligodeoxyribonucleotide - primers reactions catalyzed by calf thymus polymerase.
J. Biol. Chem., 1962, 237, 1945-1949.

- 46 - BOLLUM (F.J.) and POTTER (VAN R.) - Incorporation of thymidine into deoxyribonucleic acid by enzymes from rat tissues.
J. Biol. Chem., 1958, 233, 478-482.
- 47 - BONIFACI (E.) et RATTINI (F.) - Changements du lysozyme sérique chez le rat thymectomisé après vaccination avec le poliovirus 2.
Acta Paediat. Latina 1963, 16 (5), 473-476.
- 48 - BOUMA (J.M.W.), GRUBER (M.) - The distribution of cathepsins B and C in rat tissues.
Biochim. Biophys. Acta, 1964, 89, 545-547.
- 49 - BRACHET (J.) et JEENER (R.) - Recherches sur des particules cytoplasmiques de dimensions macromoléculaires riches en acide pentose-nucléique. Propriétés générales, relations avec les hydrolases, les hormones, les protéines de structure.
Enzymologia, 1943-45, 11, 196-212.
- 50 - BREITMAN (T.R.) and WEBSTER (G.C.) - Nucleic acid synthesis in isolated thymus nuclei.
Fed. Proc., 1958, 17, 194.
- 51 - BROWN (K.D.), JACOBS (G.) and LASKOWSKI (M.) - The distribution of nucleodepolymerases in calf thymus fractions.
J. Biol. Chem., 1952, 194, 445-454.
- 52 - CHEVREMONT (M.) - Recherches sur le rôle du métabolisme tissulaire dans la radiosensibilité du thymus de cobaye.
Arch. Biol. (Liège), 1935, 46, 507-598.
- 53 - CHEVREMONT (M.) et FIRKET (J.) - Recherches sur les variations du métabolisme du thymus de cobaye, chez l'embryon et le jeune.
C.R. Soc. Biol., 1935, 118, 190-192.
- 54 - CHEVREMONT (M.) et FIRKET (J.) - Recherches sur les modifications du métabolisme du thymus par injection au cobaye de cyclopentylldinitrophénol.
C. R. Soc. Biol., 1935, 118, 1473-1476.
- 55 - CHEVREMONT (M.) et FIRKET (J.) - Modification de la radiosensibilité du thymus après injection au cobaye de cyclopentylldinitrophénol.
C.R. Soc. Biol. 1935, 118, 1476-1479.
- 56 - CREASEY (W.A.) and STOCKEN (L.A.) - Biochemical differentiation between radio-sensitive and non-sensitive tissues in the rat.
Biochem. J., 1958, 69, 17 P.

- 57 - CREASEY (W.A.) and STOCKEN (L.A.) - The effect of ionizing radiation on nuclear phosphorylation in the radio-sensitive tissue of the rat.
Biochem. J., 1959, 72, 519-523.
- 58 - CSEH (G.) et MAROSVARI (S.) - Uber die Wirkung des Hydrocortisons auf die an Mitochondrien gebundenen Enzyme in den lymphatischen organen der Ratte.
Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch., 1960, 10, 321-334.
- 59 - CSEH (G.), MAROSVARI (I.) and HARMATH (A.) - Effect of corticosteroids on deoxyribonuclease in lymphoid organs.
Acta phys. Acad. Sci. Hung., 1958, 14, 115-126.
- 60 - CUNNINGHAM (L.) and LASKOWSKI (M.) - Presence of two different deoxyribonucleodepolymerases in veal kidney.
Biochim., Biophys. Acta, 1953, 11, 590-591.
- 61 - DASTUGUE (G.), BASTIDE (P.) et PLAT (P.M.) - L'équipement enzymatique des plaquettes sanguines.
Enzymologie, L'Expansion éditeur, 1964, pp. 141 à 238.
- 62 - DEAKIN (H.), ORD (M.G.) and STOCKEN (L.A.) - Glucose-6-phosphate-dehydrogenase activity and thiol content of thymus nuclei from control and X-irradiated rats.
Biochem. J., 1963, 89, 296-304.
- 63 - DI BELLA (S.), TERRACINI (B.) e SINISTRERO (G.) - Sull'effetto prodotto in vivo dal 9-10-dimetil-1-2-benzanthracene su alcune attività enzimatiche di tessuti di ratto.
Tumori, 1962, 48, 131-138.
- 64 - DOUGHERTY (T.F.), BERLINER (M.L.) and BERLINER (D.L.) - Hormonal influence on lymphocyte differentiation from red cells.
Ann. N-Y. Acad. Sci., 1960, 88, 78-82.
- 65 - DOUGHERTY (T.F.), BERLINER (M.L.) and BERLINER (D.L.) - 11- β -hydroxydehydrogenase system activity in thymi of mice following prolonged cortisol treatment.
Endocrinol., 1960, 66, 550-558.
- 66 - DOUNCE (A.L.) - Cytochemical foundations of enzyme chemistry. In "The Enzymes" Academic Press inc., publishers, N-Y. 1950, volume 1, part. 1, pages 187-266.
- 67 - DUBOIS (K.P.), COCHRAN (K.W.) and DOULL (J.) - Inhibition of citric acid synthesis in vivo by X-irradiation.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1951, 76, 422-427.

- 68 - DUBOIS (K.P.), and PETERSEN (D.F.) - Adenosine triphosphatase and 5-nucleotidase activity of hematopoietic tissues of irradiated animals.
Am. J. Physiol., 1954, 176, 282-286.
- 69-- DUBOIS (K.P.), PETERSEN (D.F.) and ZINS (G.R.) - Phosphatase activity of hematopoietic tissues of nitrogen-mustard-treated animals.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1956, 91, 244-248.
- 70 - EDMONDS (M.) - Enzymatic synthesis of polynucleotides from ATP and CTP.
Proceedings of the fifth international congress of biochemistry, Moscou 1961, volume IX, page 147.
- 71 - EDMONDS (M.) and ABRAMS (R.) - Polynucleotide biosynthesis : formation of a sequence of adenylate units from adenosine triphosphate by an enzyme from thymus nuclei.
J. Biol. Chem., 1960, 235, 1142-1149.
- 72 - ELLIS (D.) and FRUTON (J.S.) - The proteolytic enzymes of animal tissues.
IX. Calf thymus tripeptidase.
J. Biol. Chem., 1951, 191, 153-159.
- 73 - EMERY (A.J., Jr.) and LESKO (S.A., Jr.) - Protease activity of histones in deoxyribonucleoprotein.
Fed. Proc., 1960, 19, 305.
- 74 - EULER (H. von) und HASSELQUIST (H.) - Elektrophoretische Enzym-Bestimmungen an Blut und Seren sowie an Gehim, Milz und Thymus höherer Tiere.
Arzneimittel-Forschung, 1964, 14, 743-745.
- 75 - FENNELL (R.A.) and PEARSE (A.G.E.) - Somme histochemical observations on the bursa of Fabricius and thymus of the chicken.
Anat. rec., 1961, 139, 93-103.
- 76 - FICQ (A.) et ERRERA (M.) - Analyse autoradiographique de l'incorporation de la phénylalanine-2-¹⁴C dans les noyaux isolés.
Exptl. Cell Res., 1958, 14, 182-192.
- 77 - FIORI (A.) - Comportamento delle fosfatasi alcalina ed acida nel timo di ratto in corso di involuzione sperimentale.
Riv. anat. patol. e oncol., 1957, 12, 748-774.

- 78 - FISHER (W.D.) and CLINE (G.B.) - A density gradient for the isolation of metabolically active thymus nuclei. Biochim. Biophys. Acta, 1963, 68, 640-642.
- 79 - FISHMAN (W.H.), BAKER (J.R.) and BORGES (P.R. F.) Localization of β -glucuronidase in some human tumors. Cancer, 1959, 12, 240-245.
- 80 - FREDERICQ (E.) - Enzymic degradation of thymus nucleoprotein. Biochim. Biophys. Acta, 1963, 68, 167-176.
- 81 - FREDERICQ (E.) and OTH (A.) - Purification of acid deoxyribonuclease. Biochem. J., 1957, 66, 33 P.
- 82 - FREDERICQ (E.) and OTH (A.) - Enzymic degradation of deoxyribonucleic acid. I. Purification of acid deoxyribonuclease. Biochim. biophys. Acta, 1958, 29, 281-287.
- 83 - FREDERICQ (E.), OTH (A.) et DESREUX (V.) - Acquisitions récentes dans la physico-chimie des acides désoxyribonucléiques. Biochem. Pharmacol., 1960, 4, 3-18.
- 84 - FRENKEL (E. P.), SUGINO (Y.), BISHOP (R.C.) and POTTER (R.L.) - Effect of X-radiation on DNA metabolism in various tissues of the rat. VI. Correlative morphologic and biochemical changes during the regeneration of the thymus. Rad. Res., 1963, 19, 701-716.
- 85 - FRENSTER (J.H.), ALLFREY (V.G.) and MIRSKY (A.E.) : Metabolism and morphology of ribonucleoprotein particles from the cell nucleus of lymphocytes. Proc. Nat. Acad. Sci., 1960, 46, 432-444.
- 86 - FRIEDKIN (M.) and WOOD (H.) - Utilization of thymidine - C^{14} by bone marrow cells and isolated thymus nuclei. J. Biol. Chem., 1956, 220, 639-651.
- 87 - FRUTON (J.S.), SMITH (V.A.) and DRISCOLL (P.E.) - The proteolytic enzymes of animal tissues. VII. A peptidase of calf thymus. J. Biol. Chem., 1948, 173, 457-469.
- 88 - GEREBTZOFF (M.A.) - " Cholinesterases ", Pergamon Press, London, 1959, p. 67 et 160-163.
- 89 - GLICK (D.), LEWIN (A.) and ANTROPOL (W.) - Occurence of cholinesterase in swine. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1939, 40, 28-32.

- 90 - GOLEWSKI (S.) - Phosphorylating enzymes of nuclei acids.
I . Incorporation of (^{32}P) orthophosphate into thymus nuclei acids.
Acta. Biochim. Polon., 1962, 9, 367-372.
- 91 - GOMORI (G.) - The distribution of phosphatase in normal organs and tissues.
J. Cell and Comp. Physiol., 1941, 17, 71-83.
- 92 - GORDON (E.R.), GASSNER (E.), OKADA (S.) and HEMPELMANN (L.H.) - Deoxyribonuclease II activity in lymphoid tissues of rats.
Radiation research., 1959, 10, 545-551.
- 93 - GOUTIER (R.) - Effects of X-rays on nucleic acid biosynthesis and on the activity of nucleases in mammalian cells.
Progr. Biophys., 1961, 11, 53-77.
- 94 - GOUTIER (R.), GOUTIER-PIROTTE (M.) et RAFFI (A.) - Activité de la désoxyribonucléase acide et labilisation de l'acide désoxyribonucléique dans le thymus et le foie en régénération après irradiation totale chez le rat.
Arch. Intern. Physiol. Biochim., 1964, 72, 519-520.
- 95 - GREENBERG (L.J.) and COLE (L.J.) - Fluorimetric analysis of amidase and alkaline phosphatase in neonatal rat thymocytes : peak activities at two days of age.
Nature, 1964, 201, 1001-1003.
- 96 - GREENBERG (D.M.), NATH (R.) and HUMPHREYS (G.K.) - Purification and properties of thymidylate synthetase from calf thymus.
J. Biol. Chem., 1961, 236, 2271-2276.
- 97 - GREENSTEIN (J.P.) and LEUTHARDT (F.M.) - Neutral- β -glycerophosphatase activity in normal and neoplastic tissues.
J. Nat. Canc. Inst., 1946, 7, 1-3.
- 98 - GYVAI (A.) and KAPA (E.) - Succinic dehydrogenase activity in the thymus of laboratory rodents.
Acta. Morphol. Acad. Sci. Hung., 1961, 10, 49-58.
- 99 - HAGEN (U.), ERNST (H.) und LANGENDORFF (H.) - Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. XXVI. Mitteilung : Wirkung von Strahlenschutzsubstanzen auf die durch Röntgenstrahlen ausgelösten Stoffwechselveränderungen in Organismus.
Strahlentherapie, 1958, 107, 426-436.

- 100 - HARFORD (C.G.) and KORNBERG (A.) - Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid (DNA) in extracts of mammalian cells.
Fed. Proc., 1958, 17 , 515.
- 101 - HERLANT (M.) and TIMIRAS (P.S.) - Alkaline phosphatases in various tissues of the rat during the alarm reaction.
Endocrinol., 1950, 46 , 243-252.
- 102 - HERRANEN (A.) - Effect of X-irradiation on amino-acid incorporation into thymus cell fractions.
Arch. Biochem. Biophys., 1964, 107, 158-162.
- 103 - HERRANEN (A.) and BRUNKHORST (W.) - The effect of pH and ions on the incorporation of leucine in thymus nuclei.
Biochim. Biophys. Acta, 1962, 65 , 523-526.
- 104 - HOPKINS (J.W.) - Aminoacid activation and transfer to ribonucleic acids in the cell nucleus.
Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A., 1959, 45 , 1461-1470.
- 105 - HOPKINS (J.W.), ALLFREY (V.G.) and MIRSKY (A.E.) - Amino acid activation and carrier RNA in cell nuclei.
Fed. Proc., 1960, 19 (1), 349.
- 106 - HOWARD (A.) - Influence of radiation on DNA metabolism.
Ciba Foundation symposium on Ionizing Radiations and cell metabolism, London, 1956, p. 196 à 211.
- 107 - HUMPHREYS (G.K.) and GREENBERG (D.M.) - Studies on the conversion of deoxyuridylic acid to thymidylic acid by a soluble extract from rat thymus.
Arch. Biochem. Biophys., 1958 , 78, 275-287.
- 108 - HURWITZ (J.), BRESLER (A.) and KAYE (A.) - Incorporation of ribonucleotides into ribonucleic acid (RNA).
Biochem. Biophys. Res. Com., 1959, 1 , 3-5.
- 109 - JOVANOVIC (M.M.) and SVECENSKI (N.B.) - Effet de l'irradiation X sur l'activité de la transaminase dans les tissus de jeunes rats.
Bull. Boris Kidric Inst. Nucl. Sci., 1963, 14, 53-56.
- JUN-SHENG T'AN, FU YEN et SHI-O LI - Activités de la Glutaminase phospho-activée dans les tissus tumoraux.
Sheng-Wu Hua Hsueh Yu Sheng Wu Wu Li Hsueh Pao, 1962, 2, 41-48.
- 111 - KAHRI (A.I.), HANNUKSELA (M.) and KARAHARJU (E.O.) - Succinate tetrazolium reductase activity in the developing rat thymus.
Acta Endocr., 1963, 42, 564-570.

- 112 - KASBEKAR (D.K.), NAGABHUSHANAM (A.) and GREENBERG (D.M.) - Purification and properties of orotic acid decarboxylating enzymes from calf-thymus.
J. Biol. Chem., 1964, 239, 4245-4249.
- 113 - KEIR (H.M.), SHEPHERD (J.B.) and HAY (J.) - Deoxyribonucleic acid nucleotidyl-transferase activities from calf thymus nuclei and cytoplasm.
Biochem. J., 1963, 89, 9 P. - 10 P.
- 114 - KEIR (H.M.) and SMITH (M.J.) - Characteristics of the DNA nucleotidyltransferase activity in non-aqueous type calf-thymus nuclei.
Biochim. Biophys. Acta, 1963, 68, 589-598.
- 115 - KELLY (L.S.) - Effect of radiation on DNA synthesis in mammalian cells.
Progr. Biophys., 1957, 8, 144-163.
- 116 - KING (J.E.), ACKERMAN (G.A.) and KNOUFF (R.A.) - Effect of testosterone on the developing thymus of the chick : a morphological and histochemical study.
Anat. Rec., 1964, 148, 300-301.
- 117 - KING (J.E.), ACKERMAN (G.A.) and KNOUFF (R.A.) - The effect of testosterone on the morphogenesis of the chick thymus.
Anat. Rec., 1965, 151, 11-16.
- 118 - KIT (S.) - The role of the hexose monophosphate shunt in tumors and lymphatic tissues.
Cancer Res., 1956, 16, 70-76.
- 119 - KODAMA (Y.) - Influence d'un trouble endocrinien sur l'activité de la phénolsulfatase. II. Influence de la thyroparathyroïdectomie sur l'activité de la phénolsulfatase dans plusieurs organes du rat mâle.
Kumamoto Daigaku Taishitsu Igaku Kenkyusho Hokoku, 1961, 11, 373-380.
- 120 - KODAMA (Y.) - Influence d'un trouble endocrinien sur l'activité de la phénolsulfatase. IV. Changements de l'activité de la phénolsulfatase dans plusieurs organes du rat mâle carencé en vitamine E.
Kumamoto Daigaku Taishitsu Igaku Kenkyusho Hokoku, 1961, 11, 398-406.
- 121 - KORHONEN (L.K.) and RUPONEN (S.) - Leucine aminopeptidase (L.A.P.) in the thymus.
Acta Anat., 1962, 50, 186-190.

- 122 - KRAKOW (J.S.), COUTSOGEOTGOPOULOS (C.) and CANEL-LAKIS (E.S.) - Studies on the incorporation of deoxyribonucleotides and ribonucleotides into deoxyribonucleic acid.
Biochim. Biophys. Acta, 1962, 55, 639-650.
- 123 - KURNICK (N.B.) and KERNEN (R.L.) - Effect of aging on the deoxyribonuclease (DNase) system, body and organ weight, and cellular content.
J. Gerontol., 1962, 17, 245-253.
- 124 - KURNICK (N.B.), MASSEY (B.W.) and SANDEEN (G.): The effect of radiation on tissue deoxyribonuclease.
Radiation res., 1959, 11, 101-114.
- 125 - KUZIN (A.M.), AGUSTINI (C.), KOPYLOV (V.A.) et BUDILOVA (E.V.) - Action d'extraits de feuilles de Vicia faba irradiées sur l'incorporation de ^{32}P dans le noyau isolé de cellules du thymus.
Radiobiologia, 1961, 1, 856-857.
- 126 - LAMIRANDE (G. de) and ALLARD (C.) - Studies on the distribution of intracellular ribonucleases.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1959, 81, 570-584.
- 127 - LANGEMANN (H.) - Cholinestérase in menschlichen Organen mit innerer Sekretion.
Helv. Chim. Acta, 1942, 25, 464-472.
- 128 - LANGEMANN (H.) Weitere Untersuchungen über das Vorkommen der Cholinesterase und der Monoaminoxidase in menschlichen Organen.
Helv. Physiol. Acta, 1944, 2, 367-375.
- 129 - LANGEMANN (H.) - Ueber Vorkommen verschiedener Cholinesterase Typen in menschlichen Organen.
Helv. Physiol. Acta, 1944, 2, C 17 - C 18.
- 130 - LASKOWSKI (M.), STEBERL (E.A.), AKKA (R.) and WATSON (P.) - Partial purification of DNase II from thymus.
Biochim. Biophys. Acta, 1954, 13, 595-596.
- 131 - LAURILA (U.R.) and LASKOWSKI (M.) - Studies of specificity of deoxyribonuclease II from thymus.
J. Biol. Chem., 1957, 228, 49-56.
- 132 - LEE (R.E., Jr.) and DOMM (L.V.) - Histological and histochemical studies on the rat thymus following adrenalectomy and ACTH and cortical steroid administration.
Am. J. Anat., 1964, 114, 93-105.
- 133 - LOFTFIELD (R.B.) - The biosynthesis of protein.
Progr. Biophys., 1957, 8, 347-386.

- 134 - LOGAN (R.), ERRERA (M.), and FICQ (A.) - The effect of X-rays and ultraviolet light on the uptake in vitro of (8- 14 C) adenine and (2 - 14 C) phenylalanine by isolated nuclei.
Biochim. Biophys. Acta, 1959, 32, 147-155.
- 135 - LUDEWIG (S.) and CHANUTIN (A.) - Effect of X-rays irradiation on the alkaline phosphatase of the plasma and tissues of rats.
Am. J. Physiol., 1950, 163, 648-654.
- 136 - MAASS (H.) et ADLER (H.H.) - Der Einfluss des Cystein auf die Strahleninduzierten Veränderungen des Adeninnukleotidgehaltes in verschiedenen Organen der Ratte.
Strahlentherapie, 1961, 116, 435-442.
- 137 - MAASS (H.) and SCHUBERT (C.) - in : Proceedings of the second international conference on the peaceful uses of atomic energy.
Geneva, 1958, vol. 22, p. 449, United Nations, N.Y.
- 138 - McALPINE (R.J.) - Alkaline glycerophosphatase in the developing thyroid, parathyroid, and thymus of the albino rat.
Am. J. Anat., 1955, 96, 191-227.
- 139 - McDONALD (M.R.) - " Deoxyribonucleases ", in Methods in enzymology, Academic Press, N.Y., 1955, vol. II, p. 437 et suiv.
- 140 - McEWEN (B.S.), ALLFREY (V.G.) and MIRSKY (A.E.) - Studies of energy yielding reactions in thymus nuclei. I. Comparison of nuclear and mitochondrial phosphorylation.
J. Biol. Chem., 1963, 238, 758-766.
- 141 - McEWEN (B.S.), ALLFREY (V.G.) and MIRSKY (A.E.) - Dependence of RNA synthesis in isolated thymus nuclei on glycolysis oxidative carbohydrate catabolism and a type of "oxidative phosphorylation".
Biochim. Biophys. Acta, 1964, 91, 23-28.
- 142 - McSHAN (W.H.), ERWAY (W.F.) and MEYER (R.K.) - Succinic dehydrogenase activity of certain endocrine tissues of the rat.
Arch. Biochem., 1946, 9, 69-74.
- 143 - MAIN (R.K.), COLE (L.J.) - DNA polymerase in thymus nuclear fractions isolated with Ca^{++} .
Nature, 1964, 203, 646-648.

- 144 - MALEY (G.F.) and MALEY (F.) - Nucleotide interconversions in embryonic and neoplastic tissues. I. The conversion of deoxycytidylic acid to deoxyuridylic acid and thymidylic acid.
J. Biol. Chem., 1959, 234, 2975-2980.
- 145 - MANSON (L.A.) and LAMPEN (J.O.) - The metabolism of hypoxanthine desoxyriboside in animal tissues.
J. Biol. Chem., 1951, 191, 95-104.
- 146 - MARSH (W.H.), ORD (M.G.) and STOCKEN (L.A.) - Thiol proteins in nuclei from rat liver and thymus.
Biochem. J., 1964, 93, 539-544.
- 147 - MAVER (M.E.) and GRECO (A.) - Inhibition of cathepsins of normal calf spleen and thymus.
J. nat. canc. inst., 1947, 8, 45-48.
- 148 - MAVER (M.E.) and GRECO (A.E.) - Hydrolysis of nucleoproteins by cathepsins from calf thymus.
J. Biol. Chem., 1949, 181, 853-860.
- 149 - MAVER (M.E.) and GRECO (A.E.) - Nuclease activities of cathepsin preparations from calf spleen and thymus.
J. Biol. Chem., 1949, 181, 861-870.
- 150 - MEISTER (A.) - Amide nitrogen transfer, in The Enzymes, 2e édition, Academic Press, 1962, volume 6, P. 247 et suiv.
- 151 - METCALF (D.), SPARROW (N.) and WYLLIE (R.) - Alkaline phosphatase activity in mouse lymphoma tissue.
Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci., 1962, 40, 215-224.
- 152 - MIRSKY (A.E.) - Some problems in the study of nuclear enzymes.
The Cell Nucleus, Proc. Meeting Cambridge, 1959 (publié en 1960; ed. Butterworths, Londres), p. 167-169.
- 153 - MONDER (C.), BEN-EZZER (J.) and WHITE (A.) - Influence of steroids in vitro on transaminase activity and integrity of thymocytes.
Endocrinol., 1962, 70, 123-130.
- 154 - MOUNTER (L.A.), LIEN TIEN H. DIEN and CHANUTIN (A.) - The distribution of dialkylfluorophosphatases in the tissues of various species.
J. Biol. Chem., 1955, 215, 691-697.
- 155 - MYERS (D.K.) - Synthesis of diphosphoryridine nucleotide (DPN) in irradiated rats.
Nature, 1960, 187, 1124-1125.

- 156 - MYERS (D.K.) - An immediate effect of X-radiation on thymus cells.
Nature, 1965, 205, 365-367.
- 157 - MYERS (D.K.), DEWOLFE (D.E.), ARAKI (K.) and ARKINSTALL (W.W.) - Lose of soluble materials from irradiated thymocytes in vitro.
Can. J. Biochem. Physiol., 1963, 41, 1181-1199.
- 158 - NAGEL (W.) et WILLIG (F.) - Über Stoffwechselbedingte Veränderungen der kathepsischen aktivität in einzelnen Organen.
Z. Physiol. Chem., 1961, 324, 45-53.
- 159 - NATH (R.) and GREENBERG (D.M.) - Dihydrofolic acid reductase of calf thymus.
Biochemistry, 1962, 1, 435-441.
- 160 - NORDLIE (R.) and LARDY (H.) - Chapitre 1er de The Enzymes, 2è édition, Academic Press, 1962, p. 3 et suiv.
- 161 - NYGAARD (O.F.) and POTTER (R.L.) - Effect of X-radiation on DNA metabolism in various tissues of the rat. I. Incorporation of C¹⁴-thymidine into DNA during the first 24 hours postirradiation.
Rad. Res., 1959, 10, 462-476.
- 162 - OGIER (R.), BASTIDE (P.), FRAUX (J.) et DASTUGUE (G.) - Activités enzymatiques au niveau du thymus lyophilisé d'agneau.
Communication faite à la 33è Réunion de l'Association des Physiologistes, Louvain, 9-12 juin 1965.
- 163 - OKADA (S.), GORDON (E.R.), KING (R.) and HEMPELMANN (L.H.) - The effect of X-ray exposure on deoxyribonuclease II activity in lymphoid tissues.
Arch. Biochem. Biophys., 1957, 70, 469-476.
- 164 - ORD (M.G.) and STOCKEN (L.A.) - The effects of X- and γ radiation on nucleic acid metabolism in the rat in vivo and in vitro.
Biochem. J., 1956, 63, 3-8.
- 165 - ORD (M.G.) and STOCKEN (L.A.) - Acid - soluble phosphate metabolism in nuclei from rat thymus gland.
Biochem. J., 1961, 81, 1-8.
- 166 - ORD (M.G.) and STOCKEN (L.A.) - Phosphate-transfer reactions by nuclei from rat thymus gland.
Biochem. J., 1962, 84, 593-600.

- 167 - ORD (M.G.) and STOCKEN (L.A.) - The effects of 200 r of X-radiation in vivo on phosphate-transfer reactions in nuclei from rat thymus gland.
Biochem. J., 1962, 84, 600-601.
- 168 - OSAWA (S.), ALLFREY (V.G.) and MIRSKY (A.E.) - Mononucleotides of the cell nucleus.
J. Gen. Physiol., 1957, 40, 491-513.
- 169 - OTH (A.), FREDERICQ (E.) and HACHA (R.) - Enzymic degradation of deoxyribonucleic acid. II. Enzymic properties of thymus acid deoxyribonuclease.
Biochim. Biophys. Acta, 1958, 29, 287-296.
- 170 - PELLEGRINO (C.) et MARTELLI (A.) - Fosfomonesterasi I et II, pirofosfatasi e adenosintrifosfatasi del tessuto linfatico di ratto.
Giorn. Biochim., 1956, 5, 386-405.
- 171 - PELLEGRINO (C.) et VILLANI (G.) - La β glucuronidasi del timo durante l'autolisi del tessuto.
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 1955, 31, 822-823.
- 172 - PELLEGRINO (C.) and VILLANI (G.) - β glucuronidase in lymphatic tissues.
Biochem. J., 1956, 62, 235-240.
- 173 - PELLEGRINO (C.) and VILLANI (G.) - β glucuronidase activity in lymphatic tissues of the rat after X-ray irradiation of the whole body.
Biochem. J., 1957, 65, 599-603.
- 174 - PETERSEN (D.F.) and DUBOIS (K.P.) - Modification of the radiation induced increases in phosphatase activity of hematopoietic tissues by chemical agents.
Am. J. Physiol., 1955, 181, 513-518.
- 175 - PHEAR (E.A.) and GREENBERG (D.M.) - The methylation deoxyuridine.
J. Am. Chem. Soc., 1957, 79, 3737-3741.
- 176 - PHILLIPS (D.M.P.) and JOHNS (E.W.) - Proteinase content and the chromatography of thymus histones.
Biochem. J., 1959, 72, 538-544.
- 177 - PIRIE (A.) - The activity of enzymes and coenzymes in irradiated tissues.
Ciba Symp. Ionizing Radiations and Cell Metab., 1956, p. 38-58.
- 178 - PRAETORIUS (E.) - Dipeptidase in the thymic cortex of young albino rats.
Compt. Rend. Trav. Lab. Calsberg. Sér. Chim., 1947 26, 168-196.

- 179 - PRIVAT DE GARILHE (M.) and LASKOWSKI (M.) - Evidence for different specificities of DNase I and DNase II. Biochim. Biophys. Acta, 1954, 14, 147-148.
- 180 - PRIVAT DE GARILHE (M.) and LASKOWSKI (M.) - Study of the enzymatic degradation of deoxyribonucleic acid by two different deoxyribonucleo-depolymerases. J. Biol. Chem., 1955, 215, 269-276.
- 181 - RAHMAN (Y.E.) - Acid phosphatase and α -glucuronidase activities of thymus and spleen of rats after whole-body X-irradiation. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1962, 109, 378-381.
- 182 - REALE (E.) - La differenziazione istologica e la morfogenesi degli abbozzi glandulari dell'uomo studiate con le reazioni istochimiche per la fosfatasi alcaline ed acida. Biol. latina, 1956, 9, 31-47.
- 183 - RICHMOND (J.E.), ORD (M.G.) and STOCKEN (L.A.) - The effect of X-irradiation in vivo on protein and nucleoprotein metabolism in the rat. Biochem. J., 1957, 66, 123-127.
- 184 - ROCHE (J.), NGUYEN-VAN-THOAI et MARCELET (J.) - Le système des phosphatases du sérum sanguin. C.R. Soc. Biol., 1944, 138, 517-518.
- 185 - ROGISTER (G.) - L'acétylcholinestérase dans le thymus. C.R. Soc. Biol., 1955, 149, 622-624.
- 186 - ROGISTER (G.) - Présence de deux types de cholinestérase dans le thymus du nourrisson. C.R. Soc. Biol., 1959, 153, 714-715.
- 187 - ROGISTER (G.), DUMOULIN (E.L.) et GEREBTZOFF (M.A.) - Recherche histochimique sur l'acétylcholine et les cholinestérases. IV. Détermination biochimique des acétylcholinestérases dans le thymus. Acta Anat., 1955, 25, 361-371.
- 188 - ROSEN (F.), ROBERTS (N.R.), BUDNICK (L.E.) and NICHOL (C.A.) - Corticosteroids and transaminase activity: the specificity of the glutamic-pyruvic transaminase response. Endocrinol., 1959, 65, 256-264.
- 189 - SACHS (G.), DUVE (C. de), DVORKIN (B.S.) and WHITE (A.) - Effect of adrenal cortical steroid injection on lysosomal enzymic activities of rat thymus. Exptl. Cell. Res., 1962, 28, 597-600.

- 190 - SARKAR (N.K.) and DOUNCE (A.L.) - Proteases of calf thymus nuclei.
Fed. Proc., 1960, 19, 306.
- 191 - SAWYER (C.H.) and EVERETT (J.W.) - Cholinesterase in rat tissues and the site of serum non specific cholinesterase production.
Am. J. Physiol., 1947, 148, 675-683.
- 192 - SCAIFE (J.F.) - Effect of ionizing radiation on the pyridine nucleotides of thymocytes.
Can. J. Biochem. Physiol., 1963, 41, 1469-1481.
- 193 - SCAIFE (J.F.) - Effect of ionizing radiation on the oxidation of succinate by rat thymus mitochondria.
Can. J. Biochem. Physiol., 1963, 41, 1486-1490.
- 194 - Scaife (J.F.) and HILL (B.) - Uncoupling of oxidative phosphorylation by ionizing radiation. II. The stability of mitochondrial lipids and cytochrome C.
Can. J. Biochem. Physiol., 1963, 41, 1223-1233.
- 195 - SCHILLING (R.F.), FRUTON (J.S.), HOFSTEE (B.H.J.), WELCH (A.D.), HARRIS (J.W.), GARDNER (F.H.) and CASTLE (W.B.) - Observations on the etiologic relationship of achylia gastrice to pernicious anemia. XII. Failure of thymus aminopolypeptidase to act as intrinsic factor.
J. Lab. Clin. Med., 1950, 36, 942-949.
- 196 - SCHMIDT (G.) - Nuclease and enzymes attacking nucleic acid components, in "The Nucleic Acids", par E. Chargaff et J.N. Davidson.
Academic Press, N-Y., 1955, vol. 1, 555-626.
- 197 - SEREBROVSKAYA (Y.A.) - Activité du co-enzyme A dans les glandes endocrines et le foie du rat après irradiation par les rayons X.
Problemy Endokrinol. i Hormonoterap., 1960, 6, 28-37.
- 198 - SHACK (J.) - Deoxyribonucleases of mouse tissues.
J. Biol. Chem., 1957, 226, 573-581.
- 199 - SHIBATA (K.) - Experimental studies on the thymus. I. Difference by age in the functional activities of the rat thymus.
Gunma J. Med. Sci., 1953, 2, 93-102.
- 200 - SIEBERT (G.), LANG (K.), LUCIUS-LANG (S.), HERKERT (L.), STARK (G.), ROSSMULLER (G.) und JOCKEL (H.) - Eigenschaften und biologische Bedeutung der Desoxyribonuclease aus Säugetierorganen.
Z. Physiol., 1953, 295, 229-243.

- 201 - SMIT (J.A.) and STOCKEN (L.A.) - The effect of X-irradiation on the activation of amino acids in nuclei from rat thymus gland.
Biochem. J., 1963, 89, 37-44.
- 202 - SMIT (J.A.) and STOCKEN (L.A.) - The effect of X-irradiation on protein synthesis in nuclei from rat-thymus gland.
Biochem. J., 1963, 89, 10 P.
- 203 - SMIT (J.A.) and STOCKEN (L.A.) - The effects of X-irradiation on the incorporation of amino acids into proteins of nuclei from rat thymus gland.
Biochem. J., 1964, 91, 155-161.
- 204 - SMITH (C.) - Studies on thymus of the animal. IX. Histochemical study of irradiated mouse thymus.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1956, 93, 310-314.
- 205 - SMITH (C.) - Thymus of the mammal. XII. Histochemistry of the thymuses of C 57 BL/6 and AKR mice.
J. Nat. Canc. Inst., 1961, 26, 389-404.
- 206 - SMITH (C.) - Studies on the Thymus of the mammal. XIII. Histochemistry of irradiated thymuses of C 57 BL strain mice.
J. Nat. Canc. Inst., 1962, 29, 375-387.
- 207 - SMITH (C.) and CLIFFORD (C.P.) - Histochemical study of aberrant parathyroid glands associated with the thymus of the mouse.
Anat. Rec., 1962, 143, 229-238.
- 208 - SMITH (C.), WHARTON (T.J.) and GERHARDT (A.M.) - Studies on the thymus of the mammal. XI. Histochemical studies of thymus, spleen and lymph node in normal and irradiated mice.
Anat. Rec., 1958, 131, 369-387.
- 209 - SMITH (E.L.) - Proteolytic enzymes, in The Enzymes, Academic Press, N-Y., 1951, vol. 1, 2^e partie, p. 793 et suiv.
- 210 - SMITH (E.L.) - "Amino-peptidases", in Methods in Enzymology. Academic Press N-Y., 1955, vol. II, p. 83 et suiv.
- 211 - SMITH (M.J.) and KEIR (H.M.) - DNA nucleotidyltransferase in nuclei and cytoplasm prepared from thymus tissue in-aqueous media.
Biochim. Biophys. Acta , 1963, 68, 578-588.

- 212 - STABILINI (G.) e MARTINI (L.) - Sul potere colinoesterasico del timo : timo : dosaggio in un timona chirurgicamente asportato ad un soggetto miastenico.
Atti. Soc. lombarda Sci. med. e. Biol., 1951, 7, 395-400.
- 213 - STEINBERG (M.A.), STERN (K.G.) and ROTTINO (A.) - The oxidase activity of normal malignant lymphoid tissues.
J. nat. canc. inst., 1952, 12, 971-985.
- 214 - STERN (H.), ALLFREY (V.), MIRSKY (A.E.) and SAETREN (H.) - Some enzymes of isolated nuclei.
J. gen. physiol., 1951-52, 35, 559-578.
- 215 - STERN (K.G.), GOLDSTEIN (G.) and ALBAUM (H.G.) - Adenosinetriphosphatase activity of desoxyribose nucleoprotein from thymus.
J. Biol. Chem., 1951, 188, 273-285.
- 216 - STERN (H.) and MIRSKY (A.E.) - Soluble enzymes of nuclei isolated in sucrose and non-aqueous media. A comparative study. J. gen. physiol., 1953, 37, 177-187.
- 217 - STERN (H.) and TIMONEN (S.) - The position of the cell nucleus in pathways of hydrogen transfer : cytochrome c, flavoproteins, glutathione, and ascorbic acid.
J. gen. physiol., 1954-55, 38, 41-52.
- 218 - STEVENS (W.), COLESSIDES (C.) and DOUCHERTY (T.F.) - Effects of cortisol on the incorporation of thymidine - $2\text{-}^{14}\text{C}$ into nucleic acids of lymphatic tissue from adrenalectomized CBA mice.
Endocrinol., 1965, 76, 1100-1108.
- 219 - STRAND (F.L.) and GORDON (A.S.) - Relation of the adrenal to glycogen content and respiration of lymphoid organs.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1950, 75, 555-559.
- 220 - STULBERG (M.P.) and NOVELLI (G.D.) - "The Enzymes", 2è edition, Academic Press, N-Y., 1962, vol. 6, p.407.
- 221 - SUGINO (Y.), FRENKEL (E.P.) and POTTER (R.L.) - Effect of X-radiation on DNA metabolism in various tissues of the rat. V. DNA metabolism in regenerating thymus.
Rad. Res., 1963, 19, 682-700.
- 222 - SUGINO (Y.), TANAKA (K.) and MIYOSHI (H.) - Latent deoxyuridine monophosphokinase in calf thymus.
Biochem. Biophys. Res. Com., 1964, 16, 362-367.

- 223 - TE-CHEN-CHAO et SHIH-O LI - Propriétés de la glutaminase phopho-activité dans le thymus et le thymolymphosarcome, et actions inhibitrices des dérivés synthétiques de la glutamine sur l'activité enzymatique.
Sheng. Wu Hua Hsueh Yu Sheng Wu Wu Li Hsueh Pao, 1962, 2, 49-57.
- 224 - THOMSON (J. F.), TOURTELLOTTE (W.W.) and CARTAR (M. S.) - Effect of γ radiation on the biochemistry of the rat thymus.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1952, 80, 268-272.
- 225 - TORO (I.) - Contribution à l'histophysiologie du thymus.
Bull. Assoc. Anatomistes, 1955, 42, 1312-1325.
- 226 - WACHSTEIN (M.) - Histochemistry of enzymes in tumors, in "Handbuch der Histochemie", chez G. F. Verlag, Stuttgart, 1962, band VII, 73-153.
- 227 - WANG (T. Y.) - The globulin of calf thymus nuclei and the in vitro incorporation of (^{14}C) adenosinetriphosphate into globulin-RNA.
Biochim. Biophys. Acta, 1960, 45, 8-14.
- 228 - WANG (T. Y.) - Ribonucleoprotein particles from isolated calf thymus nuclei.
Biochim. Biophys. Acta, 1961, 51, 180-183.
- 229 - WANG (K. M.) et WANG (T. Y.) - Infra-nuclear distribution of transaminases.
Nature, 1964, 204, 880-881.
- 230 - WEBB (M.) - Use of deoxyribonuclease inhibitors in the isolation of deoxyribonucleic acids.
Nature, 1952, 169, 417.
- 231 - WEBB (M.) - The intracellular distribution of the deoxypentosenucleases of mammalian tissues.
Exptl. cell. res., 1953, 5, 16-26.
- 232 - WEBB (M.) - The preparation and properties of the deoxypentosenucleases of calf thymus and mouse leukemic tissue.
Exptl. cell. res., 1953, 5, 27-37.
- 233 - WEYMOUTH (P. P.) - Effect of a single systemic X-irradiation of the C57 BL mouse on the nucleodepolymerases of the thymus.
Radiation res., 1958, 8, 307-321.

- 234 - WHITTAKER (V.K.) and BLAKLEY (R.L.) - The biosynthesis of thymidylic acid. II. Preliminary studies with calf-thymus extracts.
J. Biol. Chem., 1961, 236, 838-841.
- 235 - YAMAMOTO (G.) - Effets de l'irradiation sur le métabolisme de l'acide nucléique. I. Etudes sur la radiosensibilité de différents organes.
Nippon Igaku Hoshason Gakkai Zasshi, 1959, 19, 477-487.
- 236 - YAMAMOTO (G.) - Effets de l'irradiation sur le métabolisme de l'acide nucléique chez les souris. II. Effet du chlorhydrate de β -mercaptoéthylamine et du bromhydrate de S- (β -aminoéthyl) isothiuronium sur la teneur en acide nucléique du thymus, de la rate et du testicule.
Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi, 1959, 19, 1003-1011.
- 237 - ZINS (G.R.), RAYMUND (A.B.) and DUBOIS (K.P.) - Univ. of Chicago, USAF Rad. Lab. Quart. Progress Report, n° 29, 15 Oct. 1958.
-

BIBLIOGRAPHIE DE LA PARTIE EXPERIMENTALE

- 1 - ABDERHALDEN (R.) - Chemical Enzymol., Van Nostrans edit., Londres, 1961.
- 2 - AEBI (H.) - Mécanisme et rôle biologique de l'action peroxydasique de la catase.
Comm. Soc. Chim. Biol., 16 fév. 1960.
- 3 - ANGLAS (J.) - Les animaux de laboratoire. La Souris. Vigot frères, édit. Paris, p. 9.
- 4 - BALLADE (Ch.), BASTIDE (P.) et DASTUGUE (G.) - Evolution des activités adénosine-triphosphatasique et glucose-6-phosphate déshydrogénasique dans le thymus de souris au cours de la croissance.
C.R. Soc. Biol., 1965, 159(7), 1560.
- 5 - BALLADE (Ch.), OGIER (R.), FRAUX (J.), BASTIDE (P.) et DASTUGUE (G.) - Activités enzymatiques au niveau du thymus lyophilisé d'agneau.
C.R.Soc. Biol., 1964, 158, 536-539.
- 6 - BANKOWSKI (Z.) et VORBRÖDT (A.) - Recherches histochimiques sur l'activité des enzymes hydrolysants l'acide adénosinotriphosphorique, l'acide adénosinomonophosphorique et le glycérophosphate dans les noyaux cellulaires du foie et du thymus du rat.
Ann. Histochim., 1962, 7 (3), 31-42.
- 7 - BECHTEL (P.), BECHTEL (Y.) et MAGNIN (P.) - Activités enzymatiques et concentration de métabolites du foie et du cerveau de la souris en croissance (Balb/C). Intérêt méthodologique en pharmacologie.
Thérapie, 1968, 23, 115-126.
- 8 - BROUSSY (J.-P.) - Contribution à l'étude de l'activité catalasique et de l'activité peroxydasique du sang humain.
Imprimerie Boisseau, Toulouse, 1965, p. 23.
- 9 - BROUSSY (J.-P.) et AMSELEM (A.) - Catalases et peroxydases.
Sem. Hopit. - Sem. Thérap. 1964, 40, 240-241.

- 10 - BROUSSY (J.-P.), PODESTA (J.-M.), AMSELEM (A.) et LUU-SI-NANG - Erythrocytes, hémoglobulinémie et activité catalasique du sang total.
Toulouse Pharm., comm. 29 oct. 1964.
- 11 - BRUSTIER (V.), AMSELEM (A.), BROUSSY (J.-P.), LUU-SI-NANG - Sur l'activité catalasique et peroxydasique du sang humain.
Comm. VIIe Congr. Int. Soc. Pharm. Méd. Latine, Bordeaux, 16-18 mai 1966.
- 12 - CASTAIGNE (A.), BROUSSY (J.-P.) AMSELEM (A.) et LUU-SI-NANG - Sur une méthode de dosage de l'activité catalasique du sang total.
Comm. Soc. Pharm. Toulouse, 19 mars 1964.
- 13 - DASTUGUE (G.), BASTIDE (P.) et DUBIEF (V.) - Activité catalasique comparée chez quelques espèces animales.
Bull. Soc. Pharm. Marseille, 1956, V (18), 153-158.
- 14 - DASTUGUE (G.) et GREZE (G.) - A propos de l'immaturité enzymatique du nouveau-né.
Lyon Méditerranée Medical, 1968, 30, 7-37.
- 15 - DIXON (M.) et WEBB (E.C.) - Enzymes. Longmans édit., Londres, 2è édit., 1964, p. 407.
- 16 - DREYFUS (J.-C.) et SCHAPIRA (C.) - Technique de dosage de la créatine-phosphokinase du sérum.
Rev. Et. Clin. Biol., 1961, VI, 700-703.
- 17 - DUBOIS (K.P.) and PETERSEN (D.F.) - Adenosine triphosphatase and 5-nucleotidase activity of hematopoietic tissues of irradiated animals.
Am. J. Physiol., 1954, 176, 282-286.
- 18 - DUBOIS (K.P.), PETERSEN (D.F.) and ZINS (G.R.) - Phosphatase activity of hematopoietic tissues of nitrogen mustard-treated animals.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1956, 91, 244-248.
- 19 - GOLDBARG (J.A.) et RUTENBURG (A.M.) - The colorimetric determination of leucine-aminopeptidase in urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other diseases.
Cancer, 1958, 11, 283-291.
- 20 - GREEN (M.N.), TSOU (K.-C.), BRESSLER (R.) and SELIGMAN (A.) - The colorimetric determination of leucine aminopeptidase activity with L-leucyl- β - naphthylamide hydrochloride.
Arch. Biochem. Biophys., 1955, 57, 458-474.

- 21 - HUGHES (B. P.) - A method for the estimation of serum creatine kinase and its use in comparing creatine kinase and aldolase activity in normal and pathological sera. Clin. Chim. Acta, 1962, 7, 597-603.
- 22 - KORHONEN (L. K.) and RUPONEN (S.) - Leucine aminopeptidase in the thymus. Acta Anat. 1962, 50, 186-190.
- 23 - LECOQ (R.) - Manuel d'analyses médicales. Doin, édit., Paris, 1962, p. 554.
- 24 - METCALF (D.) - Functional interactions between the thymus and other organs. in "The Thymus", The Wistar Institute Press, Philadelphie, 1964, p. 53-73.
- 25 - NICHOLLS (P.) et SCHONBAUM (G. R.) - in "the Enzymes", édité par Boyer (P. D.), Lardy (H.) et Myrback (K.), Academic Press, éditeur 2e édition, 1963, vol. 8, p. 222.
- 26 - OGIER (R.), BASTIDE (P.) et DASTUGUE (G.) - L'équipement enzymatique du thymus. Pathol.-Biol., 1966, 14 (1-2), 83-107.
- 27 - OGIER (R.), BASTIDE (P.), FRAUX (J.), DASTUGUE (G.) - Activités enzymatiques au niveau du thymus lyophilisé d'agneau. J. de Physiol., 1965, 57 (5), 669.
- 28 - ORD (M. G.) and STOCKEN (L. A.) - Phosphate-transfer reactions by nuclei from rat thymus gland. Biochem. J., 1962, 84, 593-600.
- 29 - ORD (M. G.) and STOCKEN (L. A.) - The effects of 200 r of X-radiation in vivo on phosphate-transfer reactions in nuclei from rat thymus gland. Biochem. J., 1962, 84, 600-601.
- 30 - PELLEGRINO (C.) e MARTELLI (A.) - Fosfomonoesterasi I e II, pirofosfatasi e adenosintrifosfatasi del tessuto linfatico di ratto. Gion. Biochim., 1956, 5, 386-405.
- 31 - PERRY (S. V.) - Myosin adenosinetriphosphatase, in : Methods in Enzymology, 1955, II, 582-588.

- 32 - PETERSEN (D.F.) and DUBOIS (K.P.) - Modification of the radiation induced increases in phosphatase activity of hematopoietic tissues by chemical agents.
Am. J. Physiol., 1955, 181, 513-518.
- 32 bis - ROUX (J.M.) et TORDET-CARIDROIT (C.) - Evolution des enzymes de la glycolyse, dans le foie, à la période périnatale, chez le rat.
C.R. Soc. Biol., 1968, 162 (3), 675-679.
- 33 - SASS (M.D.), VORSANGER (E.), SPEAR (P.W.) - Enzyme activity as an indicator of red cell age.
Clin. Chim. Acta, 1964, 10, 21.
- 34 - SCHAPIRA (F.) et DREYFUS (J.C.) - Dosage de la créatine-kinase sérique.
Ann. Biol. Clin., 1964, 22 (3-4), 349-355.
- 35 - SENSENBRENNER (M.), RENDON (A.), HILLMAN (H.) et WAKSMAN (A.) - Distribution des isoenzymes de l'aspartate amino-transférase dans les ganglions spinaux du rat.
J. de Physiol., 1968, 60, 303.
- 36 - SMITH (C.) - The microscopic anatomy of the thymus, in : "The Thymus in immunobiology."
Harper and Row publishers, New-York, 1964, p. 71-84.
- 37 - SMITH (C.) - Studies on the thymus of the mammal. XIV. Histology and Histochemistry of embryonic and early post-natal thymuses of C 57 BL/6 and AKR strain mice.
Am. J. Anat., 1965, 116, 611-630.
- 38 - SMITH (C.) - Studies on the thymus of the mammal. XV. Sites of aminopeptidase activity in the thymus of the mouse. Anat. Rec. , 1967, 158, 149-162.
- 39 - SMITH (C.) and CLIFFORD (C.P.) - Histochemical study of aberrant parathyroid glands associated with the thymus of the mouse.
Anat. Rec. , 1967, 158, 149-162.
- 39 - SMITH (C.) and CLIFFORD (C.P.) - Histochemical study of aberrant parathyroid glands associated with the thymus of the mouse.
Anat. Rec., 1962, 143, 229-238.
- 40 - SMITH (C.), WHARTON (T.J.) and GERHARDT (A.M.) - Studies on the mammal. XI. Histochemical studies of thymus, spleen and lymph node in normal and irradiated mice.
Anat. Rec., 1958, 131 (3), 369-387.

- 41 - STERN (H.), ALLFREY (V.), MIRSKY (A.E.) and SAE-TREN (H.) - Some enzymes of isolated nuclei.
J. Gen. Physiol., 1951-52, 35, 559-578.
 - 42 - STERN (K.G.), GOLDSTEIN (G.) and ALBAUM (H.G.) - Adenosinetriphosphatase activity of desoxyribose nucleo-protein from thymus.
J. Biol. Chem., 1951, 188, 273-285.
 - 43 - THEORELL (H.) - in : The Enzymes, édité par Boyer (P.D.) Lardy (H.) et Myrback (K.), Academic Press édit., 2e édition, vol. 8., p. 222.
 - 44 - THOMSON (J.F.), TOURTELLOTTE (W.W.) and CARTTAR (M.S.) - Effect of radiation of the biochemistry of the rat thymus.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1952, 80, 268-272.
 - 45 -VAN DYKE (J.H.) - Aberrant parathyroid tissue and the thymus : postnatal development of accessory parathyroid glands in the rat.
Anat. Rec.; 1959, 134, 185-204.
-

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES	3
Chapitre I - Hydrolases	5
Chapitre II - Transférases	29
Chapitre III- Oxydo-réductases	35
Chapitre IV- Lyases et synthases	39
Chapitre V - Isomérases et Racémases	40
Chapitre VI - Enzymes et métabolismes	41
Conclusion	55
RECHERCHES EXPERIMENTALES	57
Introduction	59
Expérimentation	62
Chapitre I - Thymectomies	62
Chapitre II - Mesures pondérales	64
Chapitre III- Préparation des homogénats	68
Chapitre IV- Dosage du sang dans les homogénats .	71
Chapitre V - Catalase	73
Chapitre VI- Créatine-phosphokinase	81
Chapitre VII- Adénosine-triphosphatase	88
Chapitre VIII-Leucine-amino-peptidase	96
RESUME et CONCLUSIONS GENERALES	103
BIBLIOGRAPHIE de la partie analytique	107
BIBLIOGRAPHIE de la partie expérimentale	129
